



**UNIVERSIDAD CENTRAL
DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA**

**CALIDAD OVOCITARIA Y EMBRIONARIA POSTERIOR A LA
ASPIRACIÓN DE OVOCITOS CON DOPPLER A COLOR EN
PACIENTES CON VARICOCELE PELVIANO SOMETIDOS A
FECUNDACIÓN *IN VITRO***

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO
Presentado ante la Ilustre
Universidad Central de Venezuela
por la bachiller Isolina M. Marval P.
como requisito parcial para optar al
título de Licenciada en Biología.

Tutores: Dr. Francisco Rísquez

Dr. RoschmanGonzales

CARACAS, VENEZUELA
FEBRERO, 2012



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA

ACTA

Los abajo firmantes, miembros del jurado designado por el Consejo de la Facultad de Ciencias para examinar el Trabajo Especial de Grado de la Bachiller Isolina Marval, C.I., V-19.994.919, titulado “Calidad Ovocitaria y Embrionaria posterior a la aspiración de ovocitos con Doppler a color en pacientes con varicocele pelviano sometidos a fecundación *in vitro*”, nos hemos reunido hoy, quince (15) de Febrero de 2012, en la Sala de Conferencias “Jesús María Pacheco” del Instituto de Zoología y Ecología Tropical (IZET) de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela, para atender a la defensa pública de su trabajo, después de lo cual, consideramos que amerita la calificación de decinueve (19) puntos. Certificamos así, que este Trabajo Especial de Grado, cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Central de Venezuela para optar al título de Licenciado en Biología.

Dra. Elizabeth de Merentes

Jurado

Dr. Renato D’Nobrega

Jurado

Dr. Francisco Rísquez
González

Tutor I

Dr. Roschman

Tutor II

DEDICATORIA:

A todas las mujeres que desean dejar descendencia por su paso en este mundo.

A Mathias que representa la descendencia en mi familia.

Y a toda mi familia en general, especialmente a mi abuela Elisa, que me cuida desde el cielo, y a mis padres, que me han ayudado a un cumplir el sueño de ser profesional.

AGRADECIMIENTOS

A mi tutor el Dr. Francisco Rísquez por darme la oportunidad de trabajar a su lado, regalarme sus conocimientos y guiarme durante el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Roschman Gonzáles, mi tutor, por los infinitos conocimientos que me dio en el área de estadística, por preocuparse en cada momento y hasta sacrificar conmigo fines de semanas e incluso vacaciones.

Sin duda alguna, ambos ayudaron a que este trabajo sea un éxito.

A Gustavo D'Ommer y Francisco Llaveneras por sus aportes en los conocimientos de fertilidad. Y, a todo el equipo de trabajo de la Unidad de Fertilidad del Centro Médico Docente la Trinidad.

A Lourdes Suarez, Francisco Alejandro Rísquez y Alberto Camardiel, profesores de la Universidad Central de Venezuela, por sus aportes en los conocimientos de estadística.

A la Profesora Laurin porque durante toda la carrera supo darme consejos acertados que me ayudaron a superar mis adversidades.

Al jurado, la profesora Elizabeth de Merentes y el profesor Renato de Nobrega, por sus críticas constructivas y aportes en este trabajo.

A mis amigos que me acompañaron durante mi formación académica: Las Pollis, Shantik, Gustavo, Nélica, Miguel y a todos en general.

Y en especial a mi familia: Rosa, Elisa, Luis, Jesús, Marisol, Pedro, Jesús, Isolina, Mathias, Karina, Karla y Ezequiel, por su gran apoyo y dedicación para ayudarme a cumplir cada una de las metas que me he propuesto en mi vida. Infinitas gracias a todos.

Introducción	1
Antecedentes	10
Objetivos	14
Materiales y métodos	15
Resultados	24
Discusión	53
Conclusiones	64
Apéndice	65
Bibliografía	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Gráfica de media aritmética e intervalo de confianza del 95% del número de ovocitos aspirados según la condición de la paciente (grupos de pacientes control y con varicocele pelviano).	25
Figura 2: Gráfica de media aritmética e intervalo de confianza del 95% del índice de ovocitos normales según la condición de la paciente (grupos de pacientes control y con varicocele pelviano).	26
Figura 3: Gráfica de media aritmética e intervalo de confianza del 95% del índice de ovocitos normales según la condición y la edad de la paciente (grupos de pacientes control y con varicocele pelviano, mayores y menores de 38 años de edad).	27
Figura 4: Análisis de rutas en el cual se refleja la influencia de las variables independientes sobre la calidad ovocitaria de las pacientes control y con varicocele pelviano.	30
Figura 5: Análisis de rutas en el cual se refleja la influencia de las variables independientes sobre la calidad ovocitaria de las pacientes control y con varicocele pelviano menores de 38 años de edad.	32
Figura 6: Gráfica de media aritmética e intervalo de confianza del 95% del score de la calidad embrionaria según la condición de la paciente (grupos de pacientes control y con varicocele pelviano).	33
Figura 7: Gráfica de media aritmética e intervalo de confianza del 95% del score de la calidad embrionaria según la condición y la edad de la paciente (grupos de pacientes control y con varicocele pelviano, mayores y menores de 38 años de edad).	34
Figura 8: Análisis de rutas en el cual se refleja la influencia de las variables independientes sobre la calidad embrionaria de las pacientes control y con varicocele pelviano.	37
Figura 9: Análisis de rutas en el cual se refleja la influencia de las variables independientes sobre la calidad embrionaria de las pacientes control y con varicocele pelviano menores de 38 años de edad.	39
Figura 10: Gráfica de porcentaje de pacientes embarazadas según su condición (grupos de pacientes control y con varicocele pelviano).	40
Figura 11: Gráfica de porcentaje de pacientes embarazadas según su condición y edad de la paciente (grupos de pacientes control y con varicocele pelviano, mayores y menores de 38 años de edad).	41
Figura 12: Esquema de relaciones en el cual de reflejan las influencia de las variables independientes en la cantidad de embarazos de las pacientes control y con varicocele pelviano.	43
Figura 13: Esquema de relaciones en el cual de reflejan las influencia de las variables independientes en la cantidad de embarazos de las pacientes control y con varicocele pelviano menores de 38 años de edad.	45
Figura 14: Esquema de relaciones en el cual de reflejan las influencia de las variables independientes en la cantidad de embarazos de las pacientes control y con varicocele pelviano mayores de 38 años de edad.	47
Figura 15: Visualización del alejamiento de la condición de normalidad para el número de ovocitos aspirados en pacientes control y con varicocele pelviano.	65
Figura 16: Visualización del alejamiento de la condición de normalidad para el índice de ovocitos normales en pacientes control y con varicocele pelviano.	65

Figura 17: Visualización del alejamiento de la condición de normalidad para la calidad embrionaria en
66 pacientes control y con varicocele pelviano.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Estadísticos descriptivos para la cantidad de ovocitos aspirados en pacientes control y pacientes con varicocele pelviano.	25
Tabla 2: Estadísticos descriptivos para el índice de ovocitos normales en pacientes control y pacientes con varicocele pelviano.	27
Tabla 3: Estadísticos descriptivos para el índice de ovocitos normales en pacientes control y pacientes con varicocele pelviano, menores y mayores de 38 años de edad.	28
Tabla 4: Coeficientes de regresión de la regresión lineal múltiple para evaluar las relaciones de las variables independientes (edad, paridad, antecedentes quirúrgicos ginecológicos y varicocele) con la calidad ovocitaria (índice de ovocitos normales) de las pacientes control y con varicocele pelviano.	29
Tabla 5: Coeficientes de regresión de la regresión lineal múltiple para evaluar las relaciones de las variables independientes (edad, paridad, antecedentes quirúrgicos ginecológicos y varicocele) con la calidad ovocitaria (índice de ovocitos normales) de las pacientes control y con varicocele pelviano, menores de 38 años de edad.	31
Tabla 6: Estadísticos descriptivos para el score de calidad embrionaria en pacientes control y pacientes con varicocele pelviano.	34
Tabla 7: Estadísticos descriptivos para el score de calidad embrionaria en pacientes control y pacientes con varicocele pelviano, menores y mayores de 38 años de edad.	35
Tabla 8: Coeficientes de regresión de la regresión lineal múltiple para evaluar las relaciones de las variables independientes (edad, paridad, antecedentes quirúrgicos ginecológicos, varicocele pelviano e índice de fertilización) con la calidad embrionaria (score de calidad embrionaria) de las pacientes control y con varicocele pelviano	36
Tabla 9: Coeficientes de regresión de la regresión lineal múltiple para evaluar las relaciones de las variables independientes (edad, paridad, antecedentes quirúrgicos ginecológicos, varicocele e índice de fertilización) con la calidad embrionaria (score de calidad embrionaria) de las pacientes control y con varicocele pelviano, menores de 38 años de edad.	38
Tabla 10: Tabla derivada de la regresión logística múltiple para evaluar las relaciones de las variables independientes (edad, paridad, antecedentes quirúrgicos ginecológicos, varicocele, índice de fertilización y embriones transferidos) sobre el embarazo presente en pacientes control y con varicocele pelviano.	43
Tabla 11: Tabla de clasificación de los casos. En la cual se observa si la regresión predice adecuadamente el éxito o no del embarazo en las pacientes control y con varicocele pelviano.	44
Tabla 12: Tabla derivada de la regresión logística múltiple para evaluar las relaciones de las variables independientes sobre el éxito del embarazo presente en pacientes control y con varicocele pelviano, menores de 38 años de edad.	45
Tabla 13: Tabla de clasificación de los casos. En la cual se observa si la regresión predice adecuadamente el éxito o no del embarazo en las pacientes control y con varicocele pelviano, menores de 38 años de edad.	46
Tabla 14: Tabla derivada de la regresión logística múltiple para evaluar las relaciones de las variables independientes sobre los embarazos presentes en pacientes control y con varicocele	46

pelviano, mayores de 38 años de edad.

Tabla 15: Tabla de clasificación de los casos. En la cual se observa si la regresión predice adecuadamente los embarazos presentes en las pacientes control y con varicocele pelviano, mayores de 38 años de edad.	47
Tabla 16: Estudio comparativo para las variables: edad, procedimiento, paridad, antecedentes quirúrgicos ginecológicos, sangrado, número de ovocitos aspirados, índice de ovocitos normales, índice de fertilización, score de la calidad embrionaria, número de embriones transferidos y embarazos; en grupos de pacientes control y con varicocele pelviano.	49
Tabla 17: Correlaciones existentes entre todas las variables en estudio, en pacientes control y con varicocele pelviano.	50
Tabla 18: Correlaciones existentes entre todas las variables en estudio, en pacientes control y con varicocele pelviano, menores de 38 años de edad.	51
Tabla 19: Correlaciones existentes entre todas las variables en estudio, en pacientes control y con varicocele pelviano mayores de 38 años de edad.	52
Tabla 20: Prueba de homogeneidad de varianza de Levene para el número de ovocitos aspirados en las pacientes control y con varicocele pelviano.	66
Tabla 21: Prueba de homogeneidad de varianza de Levene para el índice de ovocitos normales teniendo en cuenta el efecto de la condición y la edad de las pacientes.	66
Tabla 22: Prueba de homogeneidad de varianza de Levene para la calidad embrionaria teniendo en cuenta el efecto de la condición y la edad de las pacientes.	67
Tabla 23: Cuadro obtenido a partir del cálculo de un Análisis de Varianza (ANOVA) de 1-Factor ($\alpha=0,05$) realizado al número de ovocitos aspirados en las pacientes.	67
Tabla 24: Cuadro obtenido a partir del cálculo de un Análisis de Varianza (ANOVA) de 1-Factor ($\alpha=0,05$) realizado al índice de ovocitos normales en las pacientes.	67
Tabla 25: Cuadro obtenido a partir del cálculo de un Análisis de Varianza (ANOVA) de 2-Factores ($\alpha=0,05$) realizado al índice de ovocitos normales en las pacientes.	68
Tabla 26: Cuadro obtenido al realizar la prueba a posteriori de Duncan del ANOVA anterior (Tabla25).	68
Tabla 27: Cuadro obtenido a partir del cálculo de un Análisis de Varianza (ANOVA) de 1-Factor ($\alpha=0,05$) realizado al score de la calidad embrionaria en pacientes.	68
Tabla 28: Cuadro obtenido a partir del cálculo de un Análisis de Varianza (ANOVA) de 2-Factores ($\alpha=0,05$) realizado al score de calidad embrionaria en las pacientes.	69
Tabla 29: Tabla comparativa del porcentaje de embarazos en las pacientes control y con varicocele pelviano, se observa que el porcentaje de pacientes que quedaron embarazadas es menor en el grupo que padece varicocele pelviano.	69

TABLA DE CONTENIDO

Introducción	1
Anatomía de los genitales femeninos	3
Técnicas de reproducción asistida	4
Calidad ovocitaria y embrionaria	6
Ultrasonido Doppler a color	7
Varicocele pelviano	9
Antecedentes	
10	
Objetivos	
14	
Objetivo General	
14	
Objetivos específicos	
14	
Materiales y métodos	15
Tipo de estudio	15
Criterio de inclusión	15
Procedimiento	
16	
Aspiración de ovocitos	16
Ovocitos en e laboratorio	17
Prueba de embarazo	20
Análisis estadístico	20
1. Gráfico de media aritmética y error estándar asociado	21
2. Comparación de medias aritméticas	21
3. Comparación de frecuencias	21
4. Regresión Múltiple	22
5. Análisis de rutas	22
6. Esquema de relaciones	23
7. Matrices de correlaciones existentes en el sistema	23
Resultados	24
1. Número de ovocitos aspirados	24
2. Calidad ovocitaria	26
3. Calidad embrionaria	33
4. Embarazos	40
5. Relaciones del sistema estudiado	48
Discusión	53
1. Número de ovocitos aspirados	54
2. Calidad ovocitaria	54
3. Calidad embrionaria	56
4. Embarazos	59
5. Estudio de las relaciones del sistema	61
Conclusiones	64
Apéndices	65
Bibliografía	70

En el varicocele pelviano, las venas correspondientes al área pélvica se encuentran dilatadas, elongadas o tortuosas, independientemente de su tamaño (Gultaly y col. 2008), su diagnóstico se realiza mediante la ecografía Doppler a color (Mercede y col. 1992) y su relación con la calidad ovocitaria y embrionaria tanto como la cantidad de embarazos, se desconoce. Esta investigación busca relacionar mediante técnicas estadísticas la calidad ovocitaria y embrionaria posterior a la aspiración de ovocitos con Doppler a color con la presencia de varicocele pelviano en pacientes sometidas a fecundación *in vitro* (FIV). Para ello se analizaron 241 pacientes ♀ (115 padecen varicocele pelviano y 126 controles) sometidas a aspiración transvaginal de ovocitos con Doppler a color para la posterior realización de una FIV, que asistieron a consulta en El Centro Médico Docente La Trinidad, entre el año 2008 y 2011. Distintos análisis estadísticos permitieron evaluar las relaciones existentes de la calidad ovocitaria, calidad embrionaria y cantidad de embarazos con la presencia del varicocele pelviano. Este estudio permitió demostrar que en las pacientes con varicocele pelviano existe una disminución estadísticamente significativa de la calidad ovocitaria respecto a los casos control ($p=0,013$). En cuanto a la calidad embrionaria se encontró que no existen disimilitudes significativas en las pacientes control y con varicocele pelviano ($p=0,589$). Habiendo evaluado estos factores, se procedió a considerar el porcentaje de embarazos en ambos grupos, quedando evidenciada una disminución significativa en las pacientes con varicocele pelviano respecto a las pacientes sin esta patología ($p=0,001$). En conclusión, el varicocele pelviano puede ser un elemento importante para tomar en consideración al evaluar el éxito de las técnicas de reproducción humana asistida, ya que él afecta la calidad ovocitaria y la cantidad de embarazos.

En los mamíferos, las células germinales primordiales en diferenciación producen células gametogénicas de ambos sexos. Tras la multiplicación mitótica, en ambos sexos, las células divergen y se diferencian en células de la línea germinal femenina o masculina. Las células germinales femeninas forman ovogonias y después ovocitos a medida que ingresan en su primera división meiótica (Edwards y Rísquez, 2003). En los humanos, este proceso queda interrumpido en la profase, estadio de diplotene, durante varios años hasta que, tras la menarquía, se inician los ciclos ovulatorios y se reanuda la meiosis en cada ovocito cuyo folículo inicia su maduración (Vanrell y col. 2000). No se conoce si ésta, es la etapa más adecuada para proteger al ovocito contra las influencias ambientales (Sadler, 2004).

Ya antes del nacimiento se han formado todos los folículos primordiales que miden aproximadamente 0,5 mm de diámetro (ovocito primario rodeado de células epiteliales planas), constituyendo un *conjunto* que irá siendo utilizado progresivamente a lo largo de la pubertad y durante los ciclos reproductivos sucesivos en la mujer adulta. Cada mes, 15 a 20 folículos primordiales comienzan a madurar y atraviesan tres estadios: 1) primario o preantral; 2) secundario o antral, y 3) preovulatorio (Sadler, 2004). La gran mayoría de los ovocitos y los folículos que crecen nunca alcanzan la ovulación o fecundación; muchos se vuelven atrésicos (se degeneran y reabsorben), durante cada etapa de diferenciación (Edwards y Rísquez, 2003). Poco antes de ovular, el ovocito expulsa un primer corpúsculo polar y sale del ovario como un ovocito de segundo orden en estadio de metafase II, y pasa a denominarse óvulo, el cual tiene que alcanzar el complejo proceso de la fecundación. Si éste es penetrado por un espermatozoide, termina el proceso de la meiosis con la expulsión de un segundo corpúsculo polar (Vanrell y col. 2000).

En el ovocito secundario de mamíferos las medidas aproximadas son de 100-115 μm (Veeck, 1999), la membrana vitelina que es una matriz extracelular se denomina zona pelúcida. También, está rodeado por una capa de células llamada cúmulo, que es producida por las células foliculares del ovario (que nutren al gameto femenino). Por último, la capa más interna de las células de cúmulo, inmediatamente adyacentes a la zona pelúcida, es conocida como corona radiada. La unidad anatómica y funcional del ovario está representada por el folículo, que a su vez se encuentra formado principalmente por el ovocito secundario, las células de la granulosa, una membrana limitante y las células de la teca por fuera de esta membrana (Gilbert, 2006).

La fecundación es un proceso por el cual dos células sexuales (gametos) se fusionan para crear un nuevo individuo con un genoma derivado de ambos padres (Gilbert, 2006). Siendo un momento sumamente significativo en la concepción, su fracaso podría ser una importante causa de la infertilidad humana (Edwards y Rísquez, 2003)

En el humano, durante una relación sexual, se depositan aproximadamente 200 millones de espermatozoides en la vagina de la mujer. De éstos, unos 200 llegarán a encontrarse con el ovocito y sólo uno lo fecundará. La fecundación tiene lugar en la región de la ampolla de la trompa de Falopio, su parte más ancha y localizada próxima al ovario (Sadler, 2004). Los espermatozoides requieren una estadía en el tracto genital femenino antes de ser capaces de fecundar al ovocito, para que se dé un cambio funcional denominado capacitación espermática, que tiene dos componentes: 1) el aumento de la intensidad del movimiento flagelar y aceleración del movimiento espermático y 2) obtención de la capacidad para que se dé la reacción acrosómica (Urbina y Lerner, 2008).

La unión del espermatozoide activa al ovocito, estimulándolo para que se complete la meiosis II, pasando por la anafase y telofase, con la extrusión del segundo cuerpo polar.

Se forman dos pronúcleos unidos a la membrana, inicialmente un pronúcleo paterno más grande, localizado hacia el centro, y luego un pronúcleo materno más pequeño, localizado cerca del corpúsculo polar, que marca el segmento animal del ovocito (Edwards y Bread, 1997; Payne y col. 1997). En los humanos la primera división ocurre alrededor de 24 horas después de la fecundación (Edwards y Rísquez, 2003).

El embrión humano es una entidad de la cual aún no se conocen todas sus características biológicas (Beca, 2002). Las células resultantes de cada división mitótica son denominadas blastómeras. El número de células no aumentan de forma exponencial, de 2 a 4 a 8 células, sino que contienen frecuentemente un número impar de células (Beca, 2002) que se debe por la pérdida de la sincronía de la división de las blastómeras. Específicamente, durante las primeras divisiones las blastómeras son de un tamaño prácticamente uniforme.

El ser humano presenta una eficiencia reproductiva muy baja, a diferencia de lo que ocurre en otros mamíferos, en los cuales la tasa de concepción por ciclo reproductivo alcanza un 80%, (Beca, 2002). La infertilidad, definida como la imposibilidad de concebir después de un año de relaciones sexuales sin protección (Vanrell y col. 2000), afecta aproximadamente del 7 al 15 % de las parejas en edad reproductiva (Edwards y Rísquez, 2003). La infertilidad de una pareja depende más de la edad de la mujer que de la edad del hombre: se sabe que declina progresivamente a los 35 años, como consecuencia del gasto de la reserva folicular y el decaimiento de la calidad de los ovocitos, y que a los 38 años el porcentaje de mujeres infértiles puede llegar a 50% (Urbina y Lerner, 2008).

Anatomía de los genitales internos femeninos.

El útero es el órgano destinado a la gestación, está situado en la cavidad pelviana, en línea media, entre la vejiga y el recto, por encima de la vagina, debajo de las asas

intestinales y del colon. Las trompas uterinas o trompas de *Falopio* son dos conductos que se extienden a lo largo del borde superior de los ligamentos anchos, desde los ángulos laterales del útero hasta la superficie de ovario (Rouviere,1926).

La primera manifestación de las gónadas se aprecia en el embrión de cuatro semanas de edad, en forma de un par de eminencias longitudinales, los pliegues o crestas gonadales o genitales (Langman, 1969). Los ovarios, la gónada femenina, son órganos productores de los óvulos. En número de dos, uno derecho y uno izquierdo, los ovarios están situados a ambos extremos del útero. Su forma es la de un ovoide un poco aplanado. Su superficie es lisa hasta la pubertad; después se hace cada vez más irregular, porque se cubre de eminencias formadas por los folículos de Graff en vías de evolución, y de cicatrices consecutivas a la ruptura de estos folículos (Rouviere,1926).

Las gónadas, después del nacimiento, permanecen quiescentes hasta la adolescencia, cuando son activadas por las gonadotropinas de la pituitaria anterior. Las hormonas secretadas por las gónadas en este tiempo causan la aparición de los caracteres típicos del hombre y de la mujer adultos y la aparición del ciclo sexual en la mujer (Ganong, 1978). Este ciclo sexual es regulado por el hipotálamo. La hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) producida por el hipotálamo actúa sobre las células del lóbulo anterior de la hipófisis, las cuales responden secretando las gonadotropinas. Estas hormonas, la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), estimulan y regulan los cambios cíclicos en el ovario (Sadler, 2004).

Técnicas de Reproducción Asistida.

La fecundación asistida es un término amplio que engloba todas las técnicas encaminadas a facilitar la unión de gametos. La fecundación *in vitro* (FIV) sin duda la más representativa, ideada por Steptoe y Edward en 1976, inicialmente no fue exitosa,

ya que dio origen a un embarazo ectópico. Los cuatro pasos clásicos del tratamiento de la FIV incluyen inducción de la ovulación, monitoreo del desarrollo folicular y endometrial, recuperación de ovocitos, fertilización *in vitro* de un óvulo maduro por un espermatozoide y transferencia de embriones. En 1978, se reportó el primer nacimiento humano como producto de una FIV (Stephoe y Edwards, 1978).

No obstante, hasta el año 1992, la infertilidad causada por el factor masculino, no tenía ninguna o una muy escasa posibilidad de ser superada (Beca, 2002). La microinyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI) nace en ese mismo año siendo una FIV altamente especializada (Palermo, y col.). El procedimiento implica la unión de un solo espermatozoide al ovocito, la penetración en la zona pelúcida y su fusión con el ovolema (Palermo y col. 1992). La habilidad del ICSI para lograr altas tasas de fertilización y embarazo, sin tener en cuenta las características del espermatozoide, hace que sea el procedimiento de microinyección más eficiente (Gardner y col. 2004) y el avance más significativo en las técnicas de reproducción asistida (Edwards y Rísquez, 2003).

El laboratorio de FIV debe ofrecer un ambiente atóxico, estable y libre de patógenos, y utilizar equipos y técnicas adecuadas. Las condiciones subóptimas de cultivo se pueden manifestar como muerte embrionaria *in vitro* o pérdida del potencial de implantación (Edwards y Rísquez, 2003).

La transferencia de embriones a la madre es la etapa final de cultivo. Existen varios catéteres de transferencia en el mercado y cada uno ofrece diferentes beneficios.

La falla de la implantación en el embrión humano, en los procedimientos de FIV, puede deberse a diversos factores, tales como la edad de la mujer, inadecuada estimulación

ovárica, condición del útero, calidad del semen, calidad de los ovocitos y calidad de los embriones (Beca, 2002).

Calidad ovocitaria y embrionaria.

La calidad ovocitaria puede evaluarse de forma no invasiva para conocer el grado de madurez de los ovocitos, observando bajo el microscopio la corona radiada del mismo, la cual se puede encontrar: cerrada, que es equivalente a un ovocito inmaduro; abierta cuando el ovocito está maduro; o agrumada, donde los ovocitos se presentan postmaduros. También, durante los procedimientos de ICSI, es posible evaluar la calidad ovocitaria en mayor detalle inspeccionando los corpúsculos polares, la zona pelúcida, el citoplasma y el espacio perivitelino de los ovocitos, asignando una clasificación a las características morfológicas visibles (Edwards y Rísquez, 2003). Al momento de la inyección en un ICSI, se puede tomar en cuenta la resistencia de la membrana periplasmática al pinchazo y una correcta ruptura de la misma, donde no haya pérdida del contenido citoplasmático.

El logro de embarazos de un feto único ha resultado ser un objetivo difícil, y se ve comprometido por la necesidad de transferir varios embriones para lograr tasas de embarazo suficientemente altas. Solamente seleccionando para la transferencia aquellos embriones que presentan un alto potencial de implantación se logrará mejorar las tasas de embarazo. La selección dependerá del conocimiento actual del crecimiento embrionario y si es exitoso, debería permitir la transferencia de un solo embrión (Edwards y Rísquez, 2003).

Algunos criterios han sido sugeridos para evaluar la viabilidad y el potencial de implantación de los embriones en los programas de inseminación. Las mediciones involucradas necesitan ser no invasivas y de corto tiempo, entre las cuales tenemos:

- Por número, tamaño y polarización de los nucléolos humanos en los embriones pronucleados (Scott y col. 2000)
- Puntaje embrionario acumulado según número de blastómeras y el grado de fragmentación (Steer y col. 1992)
- Modelo de clasificación según la fragmentación de las blastómeras y su simetría (Alikaniy col. 1999; Veeck, 1999).
- Por presencia de blastómeras multinucleadas (Sadowy y col. 1998)
- Modelo para otorgar puntaje a los blastocistos humanos *in vitro* (Gardner y col. 2000). Los blastocistos son los mejores indicadores de la calidad de embriones (Edwards y Beard, 1999).

La calidad es claramente deficiente en algunos embriones humanos que son madurados *in vitro* (Edwards y Beard, 1999).

Ultrasonido Doppler a color.

Lenz y col. (1981) fueron los primeros en utilizar la ecografía transabdominal para recolección de ovocitos. En 1985, el ultrasonido transuretral proporcionó un nuevo enfoque y garantizó una evaluación adicional (Parsons, 1985); en ese mismo año, el ultrasonido transvaginal permite una gran disminución del dolor durante el procedimiento y como consecuencia una alta satisfacción de las pacientes (Dellenbach y col. 1985). Además, esta técnica no requiere una vejiga urinaria llena, y tiene la ventaja de acortar el tracto de punción folicular (Vanrell y col. 2000), dando una excelente caracterización del tejido del útero y los ovarios. Más aún, el ultrasonido transvaginal tiene menor intra e inter-variabilidad del observador en la medición del tamaño folicular (Nahar y col. 2008). La técnica transvaginal es limitada en algunas circunstancias por el pequeño campo de vista de la sonda (Leibman, y col. 1988).

El uso de ultrasonido transvaginal para guiar la recuperación de ovocitos ha ganado gran aceptación a nivel internacional (Wickland, 1985).

La integración de esta tecnología con el Doppler a color para el mapeo de flujos, solo había sido reportado con el uso del ultrasonido transdominal, pero Hata, y col. (1989) logran el mapeo de flujos en la pelvis femenina con el uso de la sonda transvaginal.

Christian Johan Doppler, un austríaco, en una memoria presentada en 1842, llamó la atención al hecho de que el color de un cuerpo luminoso, lo mismo que la altura de un cuerpo sonoro, cambia con el movimiento relativo del cuerpo y de un observador. Este efecto Doppler, como se llama, se aplica a las ondas en general (Resnick y Halliday, 1967). El efecto Doppler es un principio físico según el cual las ondas de energía modifican su frecuencia al reflejarse sobre un cuerpo en movimiento. Las células de la sangre, al ser incididas por el haz de ultrasonidos, devuelven ecos con una frecuencia modificada. Este cambio de frecuencias, que es detectable, es proporcional a la velocidad de estas partículas en movimiento. La incorporación de sistemas de análisis de este efecto en forma de pulsos intermitentes (Doppler Pulsado) permite integrarlas con la imagen ecográfica. Mediante la digitalización del efecto Doppler en tiempo real en cada punto de la imagen y su codificación en forma de una escala de color (Doppler a color), el observador puede obtener un dibujo de los flujos sobre la imagen bidimensional del área estudiada (Vanrell y col. 2000).

El Doppler transvaginal puede ser usado exitosamente en la evaluación de la circulación en la pelvis femenina, con lo cual, se ayuda al diagnóstico y descubrimiento de ciertas patologías pelvianas (Kurjaj. 1990). La alta resolución y precisión de la sonda transvaginal y la no invasividad del Doppler a color pulsado han hecho que esta nueva herramienta de diagnóstico se aplique a los estudios sobre

la vasculatura de los órganos pélvicos humanos, incluso a nivel de la red capilar (Merce y col.1992).

La incorporación del estudio de los flujos vasculares de los órganos genitales mediante equipos Doppler ha abierto interesantes expectativas de la medicina de la reproducción (Vanrell y col. 2000).

Varicocele pelviano.

Mediante el uso del ultrasonido Doppler a color puede ser diagnosticado el varicocele pelviano, el cual es definido como una entidad en la que las venas correspondientes al área pélvica se encuentran dilatadas, elongadas o tortuosas, independientemente de su tamaño.

La palabra “varicocele” viene del latín *varicem*, que significa ‘várice’, ‘dilatación permanente de una vena’, y del griego *kele*, que significa ‘tumor’ (Vásquez, 2009).

El varicocele testicular es un síndrome anatomoclínico caracterizado por la dilatación del plexo venoso y clínicamente por el reflujo venoso espermático hacia las venas que drenan la sangre de los testículos. La presencia de estas várices testiculares se ha relacionado con la infertilidad masculina. Se han descrito varias hipótesis para explicar el varicocele como factor causal de fallas en la espermatogénesis (Vásquez, 2009):

- El varicocele y la hipertemia: Los testículos del hombre se encuentran en el escroto, en lugar de estar en el interior del cuerpo como los ovarios de la mujer; esta ubicación al parecer es necesaria para el desarrollo normal de la espermatogénesis, la cual requiere de una temperatura aproximada de 33° C (Zorgniotti y MacLeod, 1973; Goldstein y Eid, 1989).
- La hipoxia y el reflujo renal: La estasis venosa podría interferir con la presión parcial de oxígeno, cambiar el metabolismo aerobio de los testículos y aumentar la concentración de CO₂ (Glezerma y col.1976).
- Presión venosa aumentada: La presión venosa aumentada en la vena testicular podría afectar el suministro sanguíneo a la microvasculatura testicular. Esta vasoconstricción sostenida podría alterar no sólo el suministro de oxígeno sino también el de nutrientes y hormonas, lo que afectaría la espermatogénesis (Naughton y col.2001).
- Otros:estrés oxidativo (Romeoy col. 2003), alteraciones endocrinas (Swerloff y Walsh, 1975) y alteraciones en la reacción acrosómica (Fusey col. 2003).

El varicocele masculino es considerado una patología altamente prevalente, crónica y progresiva, que deja secuelas tan graves como la infertilidad por sus repercusiones en el proceso de formación de gametos. En consecuencia, surge la idea que suceda algo similar en las pacientes con varicocele pelviano.

En el caso de la mujer, hay muy poco reportado sobre el varicocele pelviano, en el cual las venas correspondientes al área pélvica se encuentran dilatadas, elongadas o tortuosas; las várices ubicadas específicamente sobre el ovario son denominadas várices anexiales. El varicocele pelviano es diagnosticado mediante el uso de la ecografía Doppler (Gultaly y col. 2008).

La mayoría de los estudios relacionados se enfocan en el síndrome de congestión pélvica, que está asociado a la presencia de várices del sistema venoso pélvico y se presenta como dolor pélvico crónico, lo cual tiene importantes repercusiones sociales y económicas en la vida de las pacientes (Mathias y col. 1996). Por ende, se buscan soluciones como embolización de la vena gonadal (Bittles y Hoffer, 2008) o mediante laparoscopia (Navarro y col. 2005), sin tener en cuenta las implicaciones en el proceso de ovogénesis.

Otro campo de estudio ha sido el sangrado presente en mujeres que se someten a una aspiración folicular, lo cual puede traer diversas complicaciones en la salud de las pacientes. Shalev y col. (2004) realizaron un estudio en el cual demuestran que el uso del Doppler a color en una aspiración folicular reduce el riesgo a lesionar los vasos sanguíneos y la morbilidad en pacientes sometidas a fecundación *in vitro*. Encontraron que con el Doppler a color es posible “dibujar” una vía de penetración alternativa sin intersección de ningún vaso sanguíneo, solo pequeños vasos, o vasos con velocidades sanguíneas reducidas. Por lo que recomiendan una exploración cuidadosa. Los vasos sanguíneos pequeños alrededor de la vagina y en el estroma del ovario reciben muy

poca consideración durante la aspiración folicular, cuando la mayor atención del operador está concentrada en la localización de los folículos ováricos.

Rísquez y col. (2010) investigan, describen y confirman la utilidad y seguridad del ultrasonido transvaginal con Doppler a color para el pronóstico de resultados de la aspiración folicular. Adicionalmente, identificaron el alto riesgo de sangrado en una subpoblación de pacientes y evaluaron el posible impacto del ultrasonido Doppler en el sangrado peritoneal. Las pacientes con várices anexiales detectadas con el uso del ultrasonido Doppler a color tienen 25 veces más riesgo de sangrado peritoneal cuando se realiza la aspiración de ovocitos. Rísquez y Confino(2010) con el implemento del Doppler a Color, obtienen una frecuencia de sangrado vaginal después de la recuperación de ovocitos de menos del 1% en las pacientes mientras que la incidencia de sangrado vaginal esperada es de 2.8% en las pacientes según Ludwing y col.(2006). Finalmente concluyen que la guía del ultrasonido Doppler color es una tecnología de fácil acceso con la promesa teórica para mejorar la seguridad de la fertilización *in vitro*.

Las várices pélvicas presentes en algunas mujeres han ganado relevancia debido a las complicaciones que se pueden presentar si son lesionadas y sus implicaciones sociales y económicas, en la vida de las pacientes.

Diversos parámetros presentes en una mujer infértil han sido evaluados a lo largo de la historia mediante el uso de la estadística para determinar las influencias que pueden tener en embarazos exitosos.

La edad de las mujeres es una variable que se aplica para cualquier procedimiento. Piette y col. (1990) relacionaron la edad de la mujer con las tasas de embarazo mediante el uso de un modelo matemático. En la práctica de ICSI, Spandorfer y col.

(1988) demostraron que la avanzada edad de la mujer también influye en el éxito que pueda tener en el tratamiento. La manera más sencilla de compensar la disminución de la fertilidad en mujeres de edad avanzada con las técnicas de reproducción asistida es mediante la donación de óvulos de pacientes jóvenes, hecho que ha sido corroborado con el uso de la regresión logística (Balmaceda, 1994).

Giacchetto y col. (1989) llegaron a la conclusión de que la paridad en las mujeres juega un papel importante en la aparición de várices.

Los estudios que dieron origen a numerosos métodos para la clasificación de los embriones humanos, con el fin de evitar los embarazos múltiples, tienen su base en distintas técnicas estadísticas. Por ejemplo, para encontrar relaciones de la fragmentación de embriones con el embarazo y la implantación, las variables fueron analizadas por regresión logística múltiple. También Loi y col. (2008), en un estudio para determinar un sistema de clasificación para predecir el éxito de embarazo en pacientes que se sometieron a ICSI, utilizan el método de regresión logística para determinar la variable que predice mejor el embarazo.

Objetivo General:

Evaluar la calidad ovocitaria y embrionaria posterior a la aspiración de ovocitos con Doppler a color en pacientes con varicocele pelviano sometidos a fecundación *in vitro*.

Objetivos Específicos:

Indagar las eventuales diferencias existentes en el número de ovocitos aspirados, la calidad de ovocitos, calidad de embriones y embarazos, en pacientes sometidos a fecundación *in vitro* en grupos de individuos controles y grupos con varicocele pelviano posterior a la aspiración de ovocitos con Doppler a color.

Evaluar las relaciones existentes entre la calidad de ovocitaria, calidad embrionaria y embarazos, con diferentes variables asociadas a la condición fisiológica de la mujer y a la técnica de reproducción asistida empleada en pacientes sometidos a fecundación *in vitro* en grupos de individuos controles y grupos con varicocele pelviano posterior a la aspiración de ovocitos con Doppler a color.

Tipo de estudio

Se trató de un estudio retrospectivo y comparativo.

Criterio de inclusión

La población total considerada en este estudio fueron 240 pacientes, el criterio de inclusión tomado en cuenta fue: femeninas con varicocele pelviano, sometidas a aspiración transvaginal de ovocitos con Doppler a color para la posterior realización de una FIV o ICSI, y grupos controles que asistieron a consulta en La Clínica de Fertilidad del Centro Médico Docente La Trinidad, entre el año 2008 y 2011.

- Grupo de pacientes con varicocele pelviano:

Se consideraron 114 pacientes con varicocele pelviano. Con edades comprendidas entre los 21 años de edad y los 44 años de edad, 70 pacientes eran menores de 38 años de edad y 44 pacientes tenían 38 años de edad o más.

- Grupo de pacientes control:

Se empleó una muestra de pacientes control con un N similar al grupo de pacientes con varicocele pelviano. 126 pacientes fueron incluidas en este estudio como pacientes control. Sin embargo, 11 pacientes con varicocele pélvico no fueron consideradas posteriormente en el estudio, por falta de registro de los datos. Las edades de las pacientes iban desde los 21 años de edad hasta los 46 años de edad. De las 126 pacientes, 83 eran menores de 38 años de edad y 43 tenían 38 años de edad o más.

Procedimiento

Aspiración de ovocitos

Todas las exploraciones fueron realizadas por un único autor (Francisco Rísquez) para reducir la variabilidad interobservador al mínimo. El clínico realizó una punción ecoguiada para la aspiración de ovocitos. Antes de comenzar la punción, se activó la guía ecográfica de biopsia, que permitió el paso de la aguja, y la pantalla de flujo a color, para a través del Doppler a color observar los vasos sanguíneos que atravesó la aguja de aspiración a lo largo del trayecto. Seguidamente, se ubicó el espacio en que no exista señal de vasos sanguíneos o con menor cantidad de vasos sanguíneos. Con lo que se logró la entrada a la mayor cantidad de folículos posible, con el objetivo de realizar una sola punción por cada ovario. Este espacio se denominó la “vía adecuada” de punción ovárica y una vez ubicada se procedió a la punción de los folículos. En todos los casos se realizó de una a dos punciones por cada ovario, para aprovechar al máximo la vía adecuada de aspiración folicular. En algunos pacientes, en las que inevitablemente la aguja pasó por trayectos vascularizados, se pronosticó la existencia o ausencia de sangrado post aspiración.

Al terminar la aspiración se desactivó la pantalla de flujo a color y se evaluó con el ultrasonido transvaginal la presencia de sangrado activo en el área de punción y líquido libre en cavidad abdominal. En el caso de que lo hubiese, se procedió a la cuantificación del líquido presente en el fondo de saco de Douglas (espacio existente entre el recto y la parte posterior de la pared vaginal), en las cercanías del ovario, y en los alrededores del útero.

Las pacientes sin espacios llenos de líquido post aspiración o con espacios de sangrado cuyo máximo diámetro fue menor a dos centímetros (2 cm) se clasificaron como grupo de sangrado leve; cuando uno a tres de estos espacios tuvieran como

diámetro máximo de dos a cuatro centímetros (2 a 4 cm) se consideró como grupo de sangrado moderado; y cuando las medidas de al menos uno de estos espacios sea mayor a cuatro centímetros (4 cm) se tomaron como sangrado severo.

El diámetro vascular fue medido colocando el marcador sobre los lados de las paredes de las várices. En aquellas pacientes con tres o más vasos sanguíneos sobre el ovario, menores a 5 mm se consideró el varicocele pelviano de grado 1, de 5-8 mm el varicocele pelviano de grado 2, y mayores a 8mm se presentará varicocele pelviano de grado 3.

Ovocitos en el laboratorio

Tras la punción de los folículos preovulatorios se procedió a la identificación y evaluación de los ovocitos. Se colocaron en placas los líquidos foliculares procedentes de la punción y se examinaron con la ayuda de un microscopio estereoscópico o lupa hasta de 90 aumentos. Luego, se identificaron los ovocitos fácilmente reconocibles por la refringencia que muestra el cúmulo oóforo. Seguidamente, se aislaron y se realizó una disección mecánica para quitar el exceso del cúmulo oóforo, y así luego evaluar su madurez por la condición de la corona radiada de los ovocitos. La clasificación obtenida fue corona cerrada, abierta o agrumada.

Los ovocitos, una vez clasificados, se mantuvieron en medio de cultivo Global 929 a 37°C y en una atmósfera de aproximadamente 5% de CO₂, dependiendo de la altura en la que se ubique el laboratorio, que se proporcionó con las incubadoras que se disponen, y a una presión osmótica de 285 mOsm. El tiempo de incubación de los ovocitos previo a la inseminación dependió del grado de madurez de estos en el momento de la punción. Los ovocitos inmaduros fueron incubados el tiempo suficiente para que la corona radiada se abra, para promover así su maduración y posterior fertilización, aunque no es una práctica habitual y normalmente se desechan.

Los ovocitos fueron fertilizados en placas de cultivos con gotas de 20 μ l de medio de cultivo, sumergidos en 5 mL de aceite mineral, solo se tuvieron 10 gotas por placa, 8 para los ovocitos y 2 de lavado. Se colocaron en las placas de cultivo de 10.000 a 20.000 espermatozoides preparados por gota, es decir por ovocito, para que se dé la fecundación. Al transcurrir de 3 a 6 horas se procedió a cambiar los ovocitos a una nueva placa, con gotas de medio de cultivo limpias, en las cuales se dejaron incubar por 14 a 18 horas.

Cuando es un caso de ICSI, los ovocitos luego de un período de incubación, de 2 a 3 horas, fueron desnudados tratándolos en pequeñas gotas de hialuronidasa (80 UI y 40 UI) para liberarlos de las células del cúmulo y facilitar la microinyección (Vanrell y col, 2000). Gracias a esta remoción fue posible una evaluación exacta y precisa de diversos parámetros presentes en los ovocitos que permitieron evaluar su calidad más a fondo (Mandelbaum, 2000).

Seguidamente, se procedió a verificar la clasificación inicial de los ovocitos maduros, que deben medir aproximadamente 100 a 115 μ m, y se realizó una reclasificación con base en la condición: del primer corpúsculo polar(no debe ser grande, ni aplanado, ni hundido y sin fragmentación), la zona pelúcida (estructura de aproximadamente 15 a 20 μ de ancho), el espacio perivitelino (encontrado entre la membrana plasmática y la zona pelúcida, debe ser "limpio"), y el citoplasma(sin fragmentación mayor al 20%, sin inclusiones, ni vacuolas, no hinchado, no heterogéneo, no ovalado y no granuloso).

Aquellos ovocitos que no cumplieron con las características mencionadas, fueron clasificados como defectuosos. Los que presentaron óptimos todos los parámetros fueron considerados como ovocitos normales. En el estudio, por cada paciente se cuantificó un índice de ovocitos normales, el cual era el resultado de dividir el número de ovocitos normales entre el número de ovocitos aspirados.

Luego, con la ayuda de un microscopio invertido y un micromanipulador se sostuvo el óvulo (contenidos en placas como en el caso de FIV) por un lado en la punta de una pipeta de sujeción fina, y por el otro lado se procedió a penetrarlo con una aguja de inyección de diámetro de 10 – 12 μm , con la que previamente se inmovilizó y se puso en posición el espermatozoide. Por poner en posición al espermatozoide, se entiende que la cabeza quedó ubicada en el lado más externo de la aguja. Las placas de cultivo fueron incubadas aproximadamente 14 a 18 horas.

Transcurridas entre 14 a 18 horas después de la inseminación se pudo apreciar los signos que indican que ha ocurrido fecundación. Si el proceso de fertilización fue exitoso, se distinguen claramente dos pronúcleos, uno femenino y otro masculino en el ovoplasma (Edwards y Rísquez, 2003). Por cada paciente se calculó el índice de fertilización, el cálculo se hizo dividiendo la cantidad de ovocitos fertilizados entre los ovocitos recolectados.

Al segundo y tercer día de desarrollo *in vitro* se procedió a definir la calidad del embrión según el criterio de Veeck (1999), como un pronóstico del potencial de implantación. Donde un embrión de grado 1 es aquel con blastómeras de igual tamaño y sin presencia de fragmentos citoplasmáticos, un embrión de grado 2 posee blastómeras de igual tamaño y menos del 10% de la superficie con fragmentos citoplasmáticos, uno de grado 3 tiene blastómeras desiguales en tamaño y fragmentación variable, un embrión de grado 4 presenta o no igualdad en sus blastómeras y más de un 10 % de superficie citoplasmática se encuentra fragmentada. En caso de presentarse blastómeras multinucleadas, se pudo ver alterada la clasificación bajando un grado y evitando la transferencia de estos embriones. Finalmente, se calculó por cada paciente un score de calidad embrionaria, donde al grado embrionario se le asignó un puntaje inverso (G1=4, G2=3, G3=2 y G4=1) y se multiplicó por el número de células del embrión, el score total

de la calidad embrionaria fue una sumatoria de los valores de los embriones de cada grado.

Al tercer día de incubación bajo las condiciones adecuadas, se hizo la selección de los embriones de mejor potencial de implantación para luego ser colocados en el catéter de preferencia del clínico y transferirlos en el útero de la paciente.

Prueba de embarazo

A los 15 días post-transferencia se realizaron pruebas de embarazo de β HCG cuantitativa.

Análisis estadístico.

La recolección de datos se realizó basándose en los parámetros que resultaron más relevantes desde el punto de vista teórico en los estudios de fertilidad, como: edad; paridad (par), medido como presencia o ausencia; antecedentes quirúrgicos ginecológicos (Ant. Q), medido como presencia o ausencia; varicocele pelviano (var), medido como presencia o ausencia; número de ovocitos aspirados (#ovo); calidad ovocitaria (I_{ON}) medido en porcentaje; índice de fertilización (IF) medido en porcentaje; score de calidad embrionaria (C.E.; variable continua); sangrado (san), medido como presencia o ausencia; procedimiento realizado (proced) que pudo ser FIV o ICSI; número de embriones transferidos (TX); y embarazo (β HCG) medido como si o no. Se realizó un matriz general para el inicio del estudio, ya que ésta, es necesaria para poder aplicar cada una de las técnicas y herramientas estadísticas por el programa. En vista de que la organización de los datos no es igual al aplicar cada una de las técnicas y herramienta necesarias para las investigaciones del presente estudio, la matriz fue modificada a medida que avanzó el estudio.

Los programas utilizados para los análisis estadísticos fueron: Excel®, STATISTICA® y SSPS®.

Tratamiento de los datos.

8. Gráfico de media aritmética e intervalos de confianza del 95% asociado a la media aritmética.

Gráficos de media aritmética e intervalos de confianza del 95%, se realizaron para facilitar la percepción visual de los datos. Estos gráficos están caracterizados por su utilidad cuando se desea comparar dos o más conjuntos de datos, lo cual fue ideal en este estudio para evaluar las pacientes que presentan varicocele pelviano y los grupos de pacientes control. Se graficó la condición de la paciente (control o con varicocele pelviano) vs. la cantidad de ovocitos aspirado, vs. la calidad ovocitaria, vs. la calidad embrionaria y vs. Los embarazos.

En muchos estudios, incluidos la mayoría de los ensayos clínicos es necesario comparar ciertas características en dos o más grupos de sujetos (Díaz y Fernández, 2001). La elección de un método de análisis apropiado en este caso dependió de la naturaleza de los datos.

9. Comparación de medias aritméticas.

Se utilizó la prueba Análisis de Varianza (ANOVA) para realizar una comparación de medias aritméticas en variables cuantitativas para dos o más de dos grupos de casos.

10. Comparación de frecuencias.

Para comparar una variable en dos situaciones o grupos y conocer si las observaciones provienen de una misma población se usó la prueba Chi-cuadrado de homogeneidad.

11. Regresión Múltiple.

La técnica fue aplicada para determinar la relación existente de las variables independientes y la variable dependiente, en grupos controles y con varicocele pelviano. Las variables dependientes fueron: la calidad ovocitaria, la calidad embrionaria y embarazos. Para evaluar la calidad ovocitaria y la calidad embrionaria se usó la regresión lineal múltiple (RLM) y la regresión logística múltiple fue utilizada para evaluar la probabilidad de embarazo en las pacientes.

Fueron reportados en los casos de RLM el coeficiente de regresión parcial y el coeficiente de regresión estandarizado y sus significancia.

El coeficiente de regresión parcial (b_x) permite estimar el valor de una variable basándonos en el valor de otra. Representa las unidades de cambio en la variable dependiente por unidad de cambio en la variable independiente, cuando el resto de las variables independientes del sistema se mantienen constantes. Una vez encontradas las estimaciones de los parámetros del modelo se hicieron predicciones sobre el comportamiento de la variable Y en la población.

Los coeficientes de regresión estandarizados (b_x^*) ayudan a valorar la importancia relativa de cada variable independiente dentro del sistema estudiado.

También, fue reportado el coeficiente de determinación (R^2) que es una medida de la bondad del ajuste del modelo, permite conocer cuánto de la variabilidad de la variable respuesta está asociado a cambios de las variables predictoras.

12. Análisis de rutas.

Posteriormente, se construyó un diagrama de rutas en el cual quedaron reflejados los resultados de los coeficientes de regresión parcial estandarizados de la regresión lineal

múltiple (calidad ovocitaria y calidad embrionaria), que se llamaron coeficiente de rutas, y de esta manera se facilitó la interpretación de las relaciones y dependencias existentes de las variables en la muestra.

13. Esquema de relaciones.

Se realizó un esquema de las relaciones, donde quedaron reflejados los Odds ratio obtenidos a partir de la regresión logística múltiple realizada para evaluar las afecciones en el éxito de embarazos.

14. Matrices de correlaciones existentes en el sistema estudiado.

Los coeficientes de correlación que fueron reportados permitieron medir la asociación entre las variables consideradas en este estudio. Las variables fueron: la calidad ovocitaria, calidad embrionaria, embarazo, diferentes variables asociadas a la condición fisiológica de la mujer y a la técnica de reproducción asistida empleada, en pacientes sometidos a fecundación *in vitro* en grupos controles y grupos con varicocele pelviano. Los coeficientes de correlación empleados dependieron de la naturaleza de las variables consideradas, entre los cuales tenemos: coeficiente de correlación de Pearson (r), biserial (r_b), biserial puntual (r_{bp}), phi (φ) y phi de Cramer. Todos los coeficientes van de -1, +1 y su interpretación es similar al del coeficiente de correlación de Pearson.

Para hacer didáctica la presentación de los datos, estos se agruparon en 5 secciones, cada una de ellas depende del parámetro a evaluar (¹número de ovocitos aspirados, ²calidad ovocitaria, ³calidad embrionaria, ⁴embarazos y ⁵las correlaciones existentes en el sistema estudiado). Así, se cubrió de manera global el estudio de las afecciones que pudiera tener el varicocele pelviano sobre la fertilidad de la mujer (calidad ovocitaria, calidad embrionaria y embarazos).

La importancia de evaluar el número de ovocitos (Sección 1) y la calidad ovocitaria (Sección 2) recae en que ambas variables constituyen la reserva folicular de la mujer. A su vez, la calidad ovocitaria podría ser esencial en la determinación de la viabilidad embrionaria (Sección 3). Una alta calidad ovocitaria y embrionaria podrían ser pronóstico de una correcta fecundación del ovocito e implantación del embrión, lo que se traduce en un posible embarazo (Sección 4). Finalmente, la sección 5 estudia y corrobora las relaciones existentes en todo el sistema evaluado.

1. Número de ovocitos aspirados.

- Comparación de la media aritmética del número de ovocitos aspirados en las pacientes control y con varicocele pelviano:

En esta sección se evaluó la cantidad de ovocitos aspirados en pacientes control ($5,71 \pm 3,43$) y con varicocele pelviano ($5,93 \pm 4,07$; Figura 1 y Tabla 1), encontrándose que no existe una variación significativa entre ambos tratamientos ($p > 0,05$; Apéndice 3: Tabla 23).

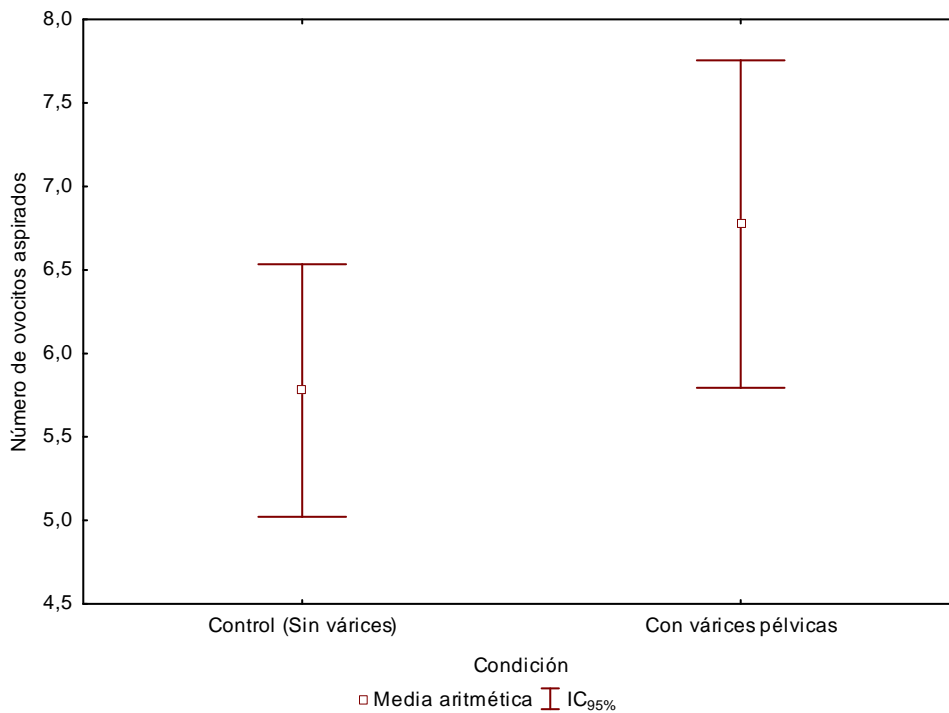


Figura 1: Gráfica de media aritmética e intervalo de confianza del 95% del número de ovocitos aspirados según la condición de la paciente (grupos de pacientes control y con varicocele pelviano). La gráfica muestra que el número de ovocitos aspirados es similar entre las pacientes de ambas condiciones ($p > 0,05$). El punto corresponde a la media aritmética y las barras corresponden al intervalo de confianza del 95%.

Tabla 1: Estadísticos descriptivos para la cantidad de ovocitos aspirados en pacientes control y pacientes con varicocele pelviano.

Condición	Media aritmética	N	Desviación estándar.
Control	5,706	126	3,425
Varicocele	5,93	115	4,073
Total	5,813	241	3,742

En el apéndice 1 y 2, se encuentran la prueba de normalidad y homogeneidad de varianza, respectivamente, que permitieron la realización del Análisis de Varianza del número de ovocitos aspirados (Figura 15 y Tabla 20).

2. Calidad ovocitaria.

En esta investigación, la calidad ovocitaria, se cuantificó mediante el índice de ovocitos normales, el cual está representado por la relación entre el número de ovocitos normales y los ovocitos aspirados en cada paciente.

- Comparación de la media aritmética del índice de ovocitos de normales en las pacientes control y con varicocele pelviano:

La Figura 2 y la Tabla 2, muestran que en las pacientes con varicocele pelviano el índice de ovocitos normales ($31,83 \pm 25,75$) es menor que en las pacientes controles ($40,69 \pm 28,45$), esta diferencia es estadísticamente significativa ($p < 0,05$; Apéndice 3: Tabla 24).

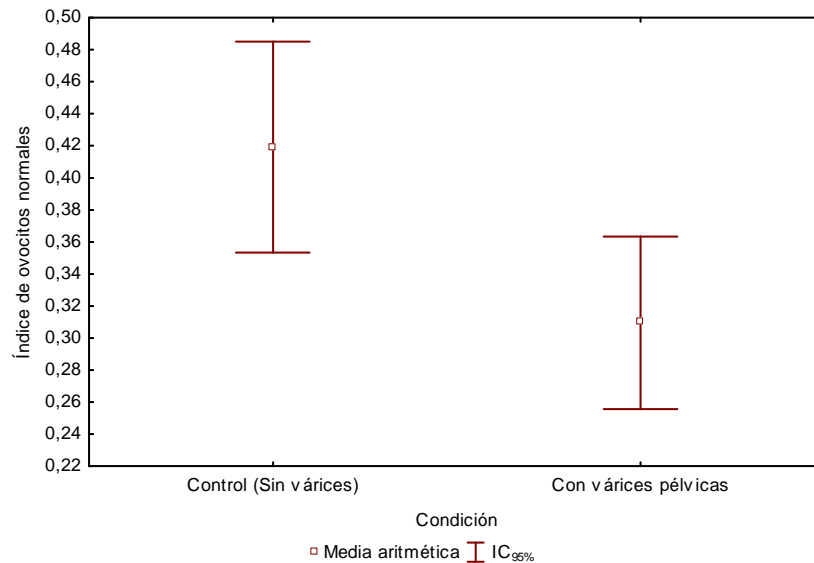


Figura 2: Gráfica de media aritmética e intervalo de confianza del 95 % del índice de ovocitos normales según la condición de la paciente (grupos de pacientes control y con varicocele pelviano). La gráfica muestra que el índice de ovocitos normales es menor en la pacientes con varicocele pelviano ($p < 0,05$). El punto corresponde a la media aritmética y las barras corresponden al intervalo de confianza del 95%.

Tabla 2: Estadísticos descriptivos para el índice de ovocitos normales en pacientes control y pacientes con varicocele pelviano.

Condición	Media aritmética	N	Desviación estándar.
Control	40,69	81	28,45
Varicocele	31,83	80	25,75
Total	36,47	161	28,04

Debido a las diferencias significativas entre las pacientes controles y con varicocele pelviano en la calidad ovocitaria y la relevancia que posee la edad sobre ésta variable (Sánchez. 2000), se analizó a las pacientes empleando grupos etarios, separándolas en dos conjuntos: pacientes menores de 38 años de edad y mayores de 38 años de edad. En la figura 3, se observó que tanto la presencia del varicocele pelviano como el incremento de la edad de las pacientes disminuyen el índice de ovocitos normales ($p < 0,050$; Apéndice 3: Tabla 25).

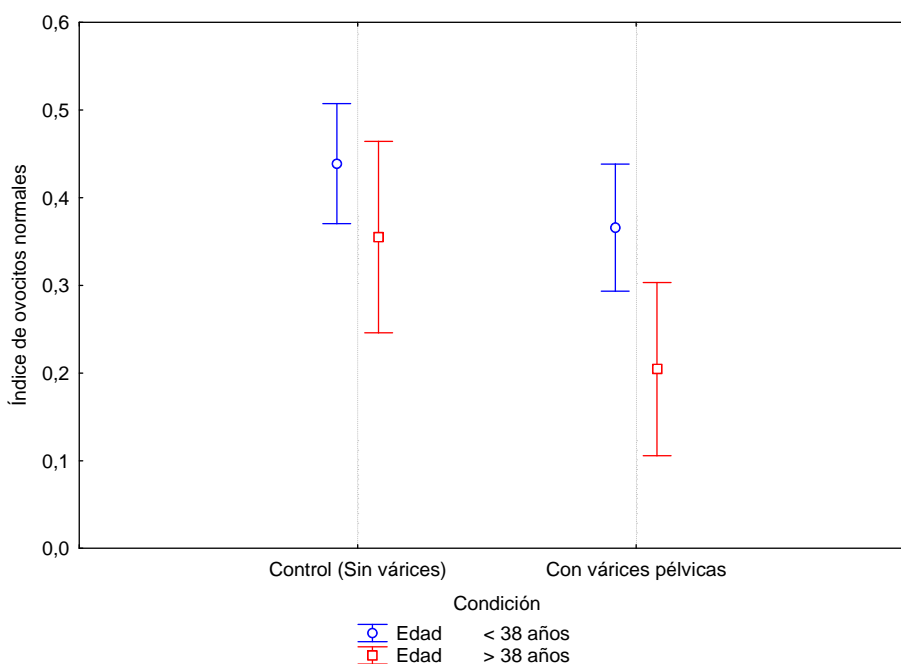


Figura 3: Gráfica de media aritmética e intervalo de confianza del 95% del índice de ovocitos normales según la condición y la edad de la paciente (grupos de pacientes control y con varicocele pelviano, mayores y menores de 38 años de edad). Se puede notar que la presencia del varicocele pelviano y el incremento de la edad de las pacientes tienden a disminuir el índice de ovocitos normales ($p < 0,05$). El punto corresponde a la media aritmética y las barras corresponden al intervalo de confianza del 95%.

También, podemos observar (Figura 3 y Tabla 3) que la media aritmética del índice de ovocitos normales en los cuatro grupos es menor en aquellas pacientes con varicocele pelviano mayores de 38 años de edad ($20,46 \pm 25,03$), y mayor en las pacientes control menores de 38 años de edad ($44,47 \pm 29,70$).

Tabla 3: Estadísticos descriptivos para el índice de ovocitos normales en pacientes control y pacientes con varicocele pelviano, menores y mayores de 38 años de edad.

Condición	Media aritmética	N	Desviación estándar
Control < 38 años	44,47	58	29,70
Varicocele < 38 años	36,59	52	22,62
control > 38 años	35,51	23	31,31
Varicocele > 38 años	20,46	28	25,03
Total	36,47	161	28,04

Adicionalmente, se realizó una prueba a posteriori de Duncan que demostró que la diferencia del índice de ovocitos normales en los cuatro grupos está contenida en las pacientes con varicocele pelviano, mayores a 38 años de edad ($p < 0,05$; Apéndice 3: Tabla 26).

En el apéndice 1 y 2, se encuentran la prueba de normalidad y homogeneidad de varianza, respectivamente, que permitieron la realización del Análisis de Varianza del índice de ovocitos normales (Figura 16 y Tabla 21).

- Análisis de rutas:

Seguidamente, se realizaron tres análisis de rutas, el primer análisis de rutas evaluó la calidad ovocitaria en las pacientes en general, y en los dos casos siguientes se discriminan entre las pacientes menores y mayores de 38 años de edad.

Los tres casos consideraron como variable dependiente la calidad ovocitaria (I_{ON}) y como variables independientes: la edad, la paridad (par), los antecedentes quirúrgicos ginecológicos (Ant. Q) y el varicocele pelviano (var).

Es importante mencionar que la selección de las variables tomadas en cuenta en este análisis se hizo con base a la importancia biológica que pudieran tener sobre el parámetro a evaluar. Más adelante se verá, que en las regresiones realizadas tomando en cuenta otra variable dependiente la selección de las variables no fue la misma.

A. Análisis de rutas general.

En este análisis el coeficiente de determinación indica que un 69% de la variabilidad de la calidad ovocitaria está asociada a cambios en las variables predictoras consideradas.

Entre las relaciones encontradas se destacan por su significancia las siguientes:

- Por cada año más de vida que tenga la paciente su índice de ovocitos normales decae 1,28 unidades ($b_{Edad}=-0,128$; Figura 4 y Tabla 4), resultado que coincide con las tendencias reportadas en la literatura.
- La presencia del varicocele pelviano causa una disminución del índice de ovocitos normales de 8,67 unidades ($b_{var}=-8,67$; Figura 4 y Tabla 4).

Ambas relaciones corroboran los resultados expuestos al inicio de esta sección.

Tabla 4: Coeficientes de regresión de la regresión lineal múltiple para evaluar las relaciones de las variables independientes (edad, paridad, antecedentes quirúrgicos ginecológicos y varicocele) con la calidad ovocitaria (índice de ovocitos normales) de las pacientes control y con varicocele pelviano. Los coeficientes de regresión parcial no estandarizados indican que la presencia de varicocele ($b_{Edad}=-1,28$) y el aumento de la edad de la paciente ($b_{var}=-8,67$) tienen una relación inversa con el índice de ovocitos normales que es estadísticamente significativa ($p < 0,05$). En rojo se marcan las relaciones estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

	Coeficiente de regresión parcial estandarizado	Coeficiente de regresión parcial	p
Punto de corte		88,31	0,00
Edad	-0,25	-1,28	0,00
Par	-0,02	-1,33	0,81
Ant. Q	-0,11	-6,24	0,18
Var	-0,16	-8,67	0,05

En la Figura 4, se muestra la ecuación de regresión lineal múltiple, con los coeficientes de regresión parcial no estandarizados, que describe la calidad ovocitaria en pacientes control y con varicocele pelviano. También se observa, que la variable más relevante sobre la calidad ovocitaria es la edad de la paciente ($b_{\text{Edad}}^* = -0,247$) seguida por la presencia de varicocele pelviano ($b_{\text{var}}^* = -0,155$).

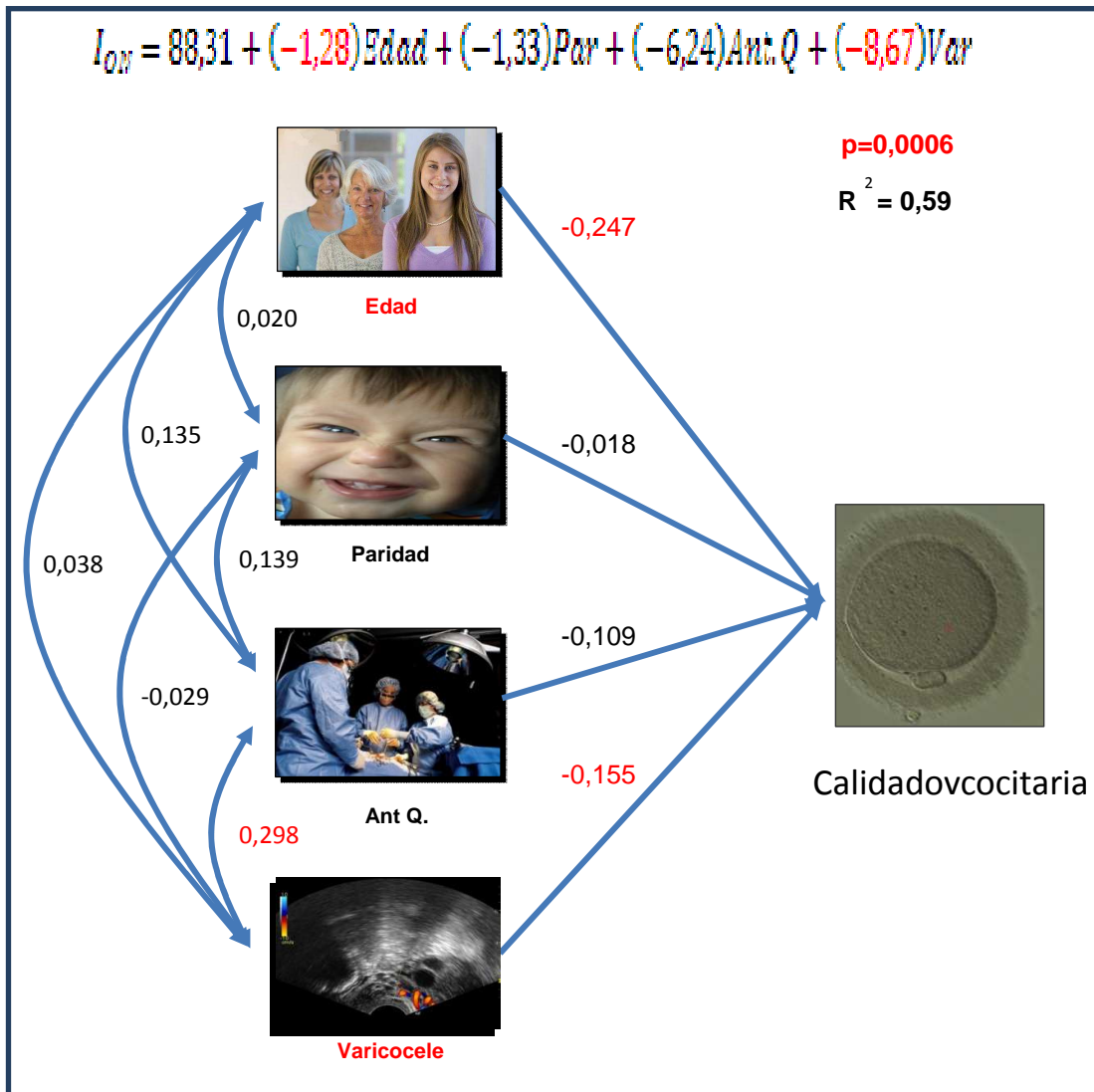


Figura 4: Análisis de rutas en el cual se refleja la influencia de las variables independientes (edad, paridad, antecedentes quirúrgicos ginecológicos y varicocele) sobre la calidad ovocitaria de las pacientes control y con varicocele pelviano. Las líneas rectas corresponden al coeficiente de regresión parcial estandarizado de las variables independientes sobre la variable dependiente y las líneas curvas corresponden al coeficiente de correlación de Pearson de las variables independientes. En la parte superior esta descrita la ecuación de regresión utilizando los coeficientes de regresión parcial no estandarizados. Se señala en rojo las correlaciones con un $p < 0,050$.

B. Regresión lineal múltiple y análisis de rutas discriminando en grupos etarios (pacientes menores y mayores de 38 años de edad).

En el análisis de rutas realizado distinguiendo entre pacientes menores 38 años de edad, el coeficiente de determinación nos permite conocer que un 45% de la variabilidad de la calidad ovocitaria en las pacientes está asociada a cambios en las variables predictoras consideradas ($R^2=0,45$ Figura 5).

Al interpretar los coeficientes de regresión parcial no estandarizados encontramos que por cada año más de vida que tenga la paciente su I_{ON} decae 1,24 unidades ($b_{Edad}=-1,24$; Figura 5 y Tabla 5).

Por otra parte, es importante resaltar que a pesar que el efecto del varicocele pelviano no es significativo, al 95% de confianza, este sí afecta la calidad ovocitaria en estas pacientes por su importancia biológica ($p=0,1$; $b_{Var}=-6,17$) encontrando que la presencia del varicocele pelviano reduce el I_{ON} en 6,17 unidades (Tabla 5).

Tabla 5: Coeficientes de regresión de la regresión lineal múltiple para evaluar las relaciones de las variables independientes (edad, paridad, antecedentes quirúrgicos ginecológicos y varicocele) con la calidad ovocitaria (índice de ovocitos normales) de las pacientes control y con varicocele pelviano, menores de 38 años de edad. Los coeficientes de regresión parcial estandarizados indican que la presencia de varicocele y la edad de las pacientes tienen una relación inversa con el índice de ovocitos normales ($p < 0,05$). En rojo se marcan las relaciones estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

	Coeficiente de regresión parcial estandarizado	Coeficiente de regresión parcial	P
Punto de corte		85,77	0,00
Edad	-0,18	-1,24	0,05
Par	0,11	8,70	0,26
Ant. Q	-0,14	-7,99	0,14
Var	-0,15	-6,17	0,11

En la figura 5, se muestra la ecuación de regresión lineal múltiple, con los coeficientes de regresión parcial no estandarizados, que describe calidad ovocitaria en pacientes control y con varicocele pelviano, menores de 38 años de edad. También, se observa que la variable más relevante en el sistema es la edad de la paciente ($b_{Edad}^*=0-1,83$).

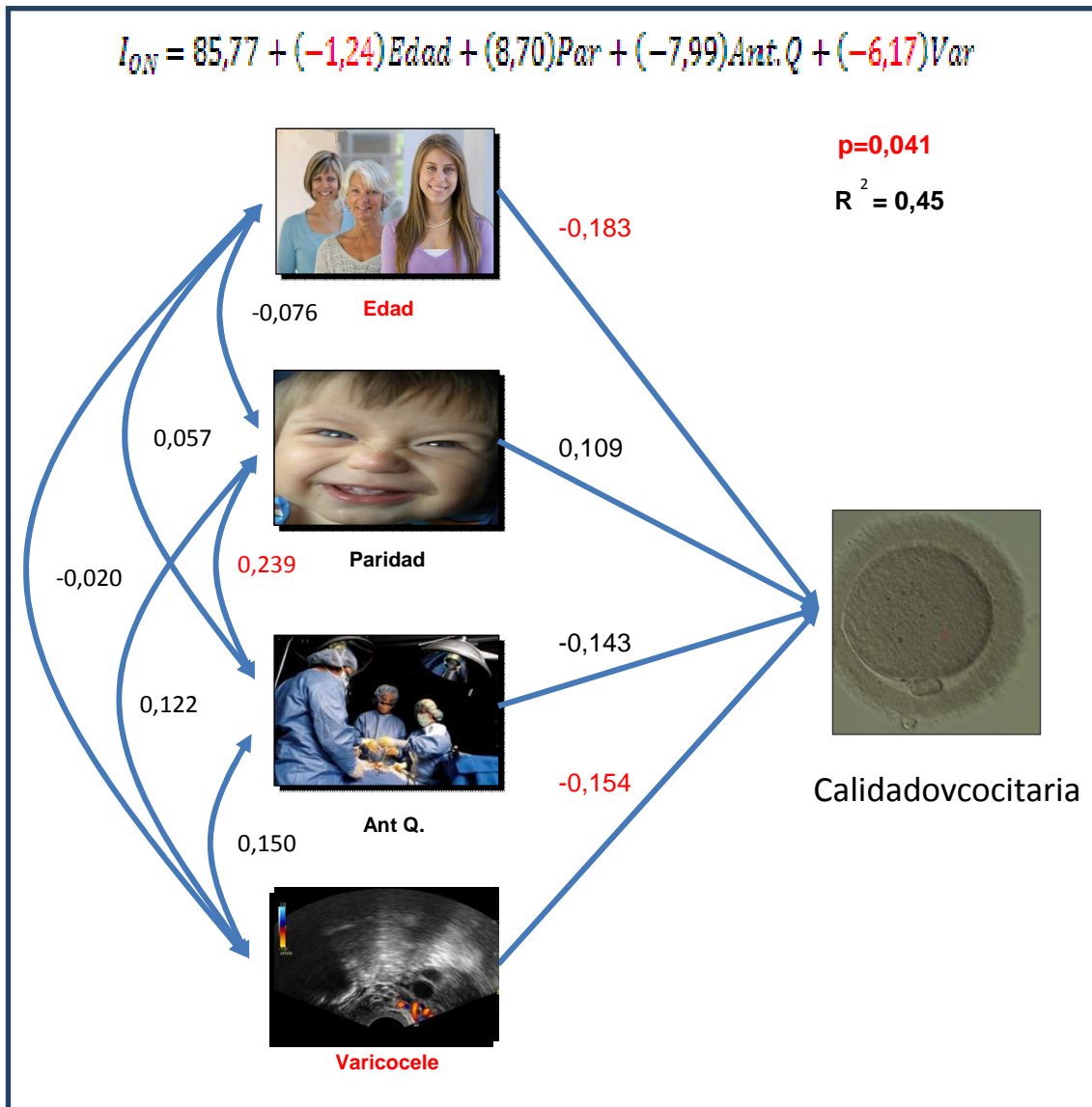


Figura 5: Análisis de rutas en el cual se refleja la influencia de las variables independientes sobre la calidad ovocitaria de las pacientes control y con varicocele pelviano, menores de 38 años de edad. Las líneas rectas corresponden al coeficiente de regresión parcial estandarizado de las variables independientes sobre la variable dependiente y las líneas curvas corresponden al coeficiente de correlación de Pearson de las variables independientes. En la parte superior esta descrita la ecuación de regresión utilizando los coeficientes de regresión parcial no estandarizados. Se señala en rojo las correlaciones con un $p < 0,050$

Por otra parte, al intentar realizar la regresión lineal múltiple del índice de ovocitos normales en las pacientes control y con varicocele pelviano, mayores de 38 años de edad, se obtuvo $R^2 = 0,06$ ($p = 0,44$). En consecuencia, tan solo aproximadamente un 6% de la variabilidad de la calidad ovocitaria en las pacientes menores de 38 años en este análisis está asociada a cambios en las variables predictoras consideradas por lo que no existe una regresión en el sistema planteado.

3. Calidad embrionaria.

La calidad embrionaria fue determinada según el criterio de Veeck (1999) y cuantificada mediante un score de calidad embrionaria.

- Comparación de medias aritméticas del score de calidad embrionaria en las pacientes control y con varicocele pelviano:

Se evaluó el score de la calidad embrionaria en pacientes control ($51,69 \pm 22,49$) y con varicocele pelviano ($50,24 \pm 21,29$; Figura 6 y Tabla 6) y se demostró que no existen diferencias significativas entre ambos grupos (Apéndice 3: Tabla 27).

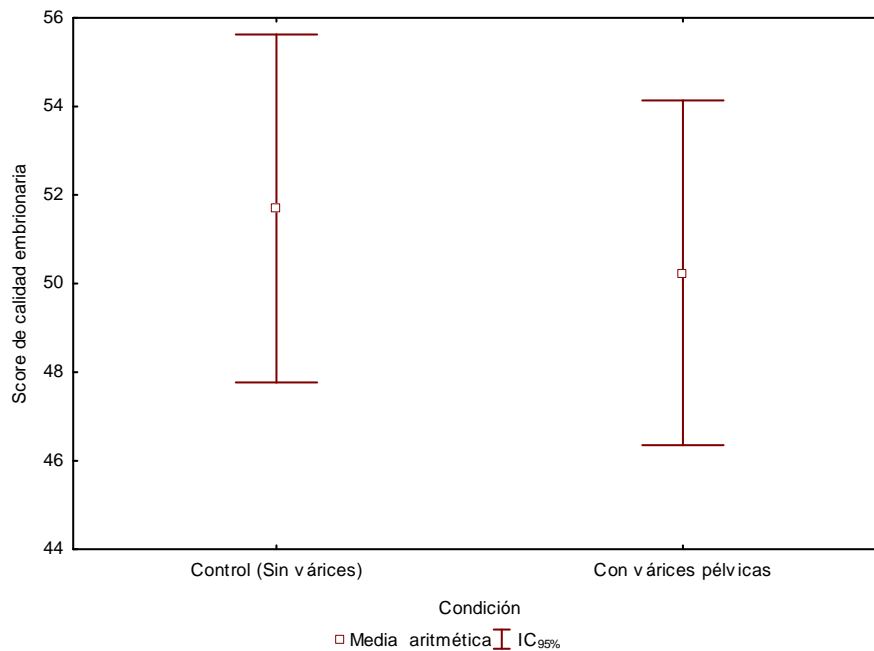


Figura 6: Gráfica de media aritmética e intervalo de confianza del 95% del score de la calidad embrionaria según la condición de la paciente (grupos de pacientes control y con varicocele pelviano). La gráfica muestra que el score de calidad embrionaria es similar en ambos grupos ($p > 0,05$). El punto corresponde a la media aritmética y las barras corresponden al intervalo de confianza del 95%.

Tabla 6: Estadísticos descriptivos para el score de calidad embrionaria en pacientes control y pacientes con varicocele pelviano.

Condición	Media del score de calidad embrionaria	N	Desviación estándar.
Control	51,69	126	22,49
Varicocele	50,24	115	21,29
Total	51,05	241	21,98

A pesar del resultado anterior, se procedió a discriminar entre pacientes menores y mayores de 38 años de edad para visualizar las tendencias que se pudiesen presentar. Se puede notar en la Figura 7 y en la Tabla 7, que la calidad embrionaria tiende a disminuir en las pacientes de ambas condiciones mayores de 38 años de edad.

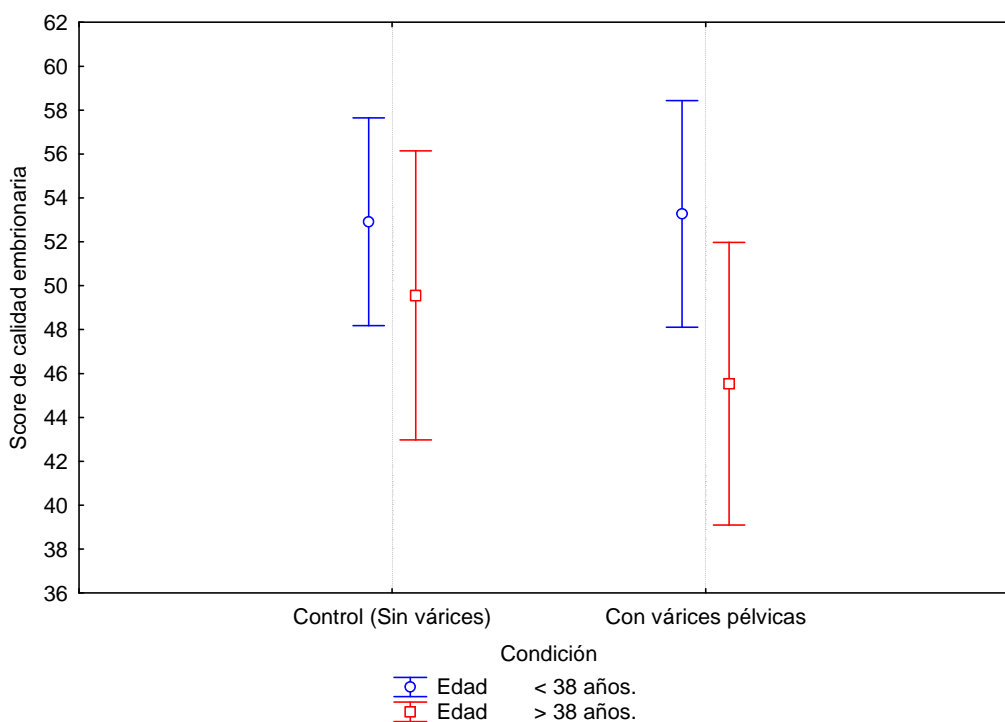


Figura 7: Gráfica de media aritmética e intervalo de confianza del 95% del score de la calidad embrionaria según la condición y la edad de la paciente (grupos de pacientes control y con varicocele pelviano, mayores y menores de 38 años de edad). Se puede notar que el incremento de la edad de las pacientes tiende a disminuir el índice de ovocitos normales en ambas condiciones ($p > 0,05$). El punto corresponde a la media aritmética y las barras corresponden al intervalo de confianza del 95%.

Tabla 7: Estadísticos descriptivos para el score de calidad embrionaria en pacientes control y pacientes con varicocele pelviano, menores y mayores de 38 años de edad.

Condición	Media aritmética	N	Desviación estándar
Control < 38 años	53,27	43	19,21
Varicocele < 38 años	52,81	45	23,42
control > 38 años	49,56	70	20,69
Varicocele > 38 años	45,53	83	23,63
Total	51,05	241	21,98

El análisis de varianza de dos vías reportado en el Apéndice 3 (Tabla 28), demostró que ni la edad ni la presencia de varicocele pelviano, causan una disminución estadísticamente significativa del score de calidad embrionaria en los cuatro grupos tomados en cuenta. Aunque, es importante mencionar que el efecto de la edad a pesar de no ser significativo al 95% de confianza si lo es biológicamente, encontrando que el score de calidad embrionaria disminuye en pacientes de edad avanzada ($p=0,06$).

En el apéndice 1 y 2, se encuentran la prueba de normalidad y homogeneidad de varianza, respectivamente, que permitieron la realización del Análisis de Varianza del score de calidad embrionaria (Figura 17 y Tabla 22).

- Análisis de rutas:

Se realizaron tres análisis de rutas. El primer análisis de rutas evalúa la calidad embrionaria en las pacientes de todas las edades. En los dos casos siguientes se discriminan entre las pacientes menores y mayores de 38 años de edad.

Los análisis de rutas realizados consideraron como variable dependiente el score de calidad embrionaria (C.E.), y como variables independientes: la edad de la paciente, la paridad (par), los antecedentes quirúrgicosginecológicos (Ant.Q), el varicocele pelviano (var) y el índice de fertilización (IF).

A. Análisis de rutas general.

En este modelo de regresión lineal múltiple 48% de la variabilidad de la calidad embrionaria está asociada a cambios en las variables predictoras consideradas ($R^2=0,48$; Figura 8).

Al analizar los coeficientes de regresión parcial se destaca la relación entre el IF y la calidad embrionaria, encontrando, que por cada incremento en una unidad del IF el score de calidad embrionaria aumenta 15,40 unidades ($b_{IF}=15,40$). También se observa, la relación entre la edad y el score de calidad embrionaria, en ella apreciamos que por cada año más de vida que tenga la paciente (edad), su score de calidad embrionaria disminuye 0,46 unidades ($b_{Edad}=0,46$; Tabla 8)

El análisis de rutas general muestra que el efecto del índice de fertilización es el más relevante sobre el score de calidad embrionaria ($b_{IF}^*=0,164$), seguido por la edad de la paciente ($b_{Edad}^*=-0,110$; Figura 8 y Tabla 8).

Cabe destacar, que la presencia de varicocele pelviano no tiene efectos significativos sobre la calidad embrionaria ($p > 0,05$, Figura 8).

Tabla 8: Coeficientes de regresión de la regresión lineal múltiple para evaluar las relaciones de las variables independientes (edad, paridad, antecedentes quirúrgicos ginecológicos, varicocele pelviano e índice de fertilización) con la calidad embrionaria (score de calidad embrionaria) de las pacientes control y con varicocele pelviano. Los coeficientes de regresión parcial estandarizados indican que entre el índice de fertilización y la calidad embrionaria existe una relación estadísticamente significativa ($p < 0,05$). En rojo se marcan las relaciones estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

	Coeficiente de regresión parcial estandarizado	Coeficiente de regresión parcial	p
Punto de corte		57,01	0,00
Edad	-0,11	-0,46	0,09
Var	-0,03	-1,04	0,60
Par	-0,09	-4,69	0,18
Ant. Q	0,08	3,64	0,21
IF	0,16	15,40	0,01

La ecuación de regresión lineal múltiple, con los coeficientes de regresión parcial no estandarizados, que describe la calidad embrionaria en pacientes control y con varicocele pelviano se encuentra descrita en la figura 8.

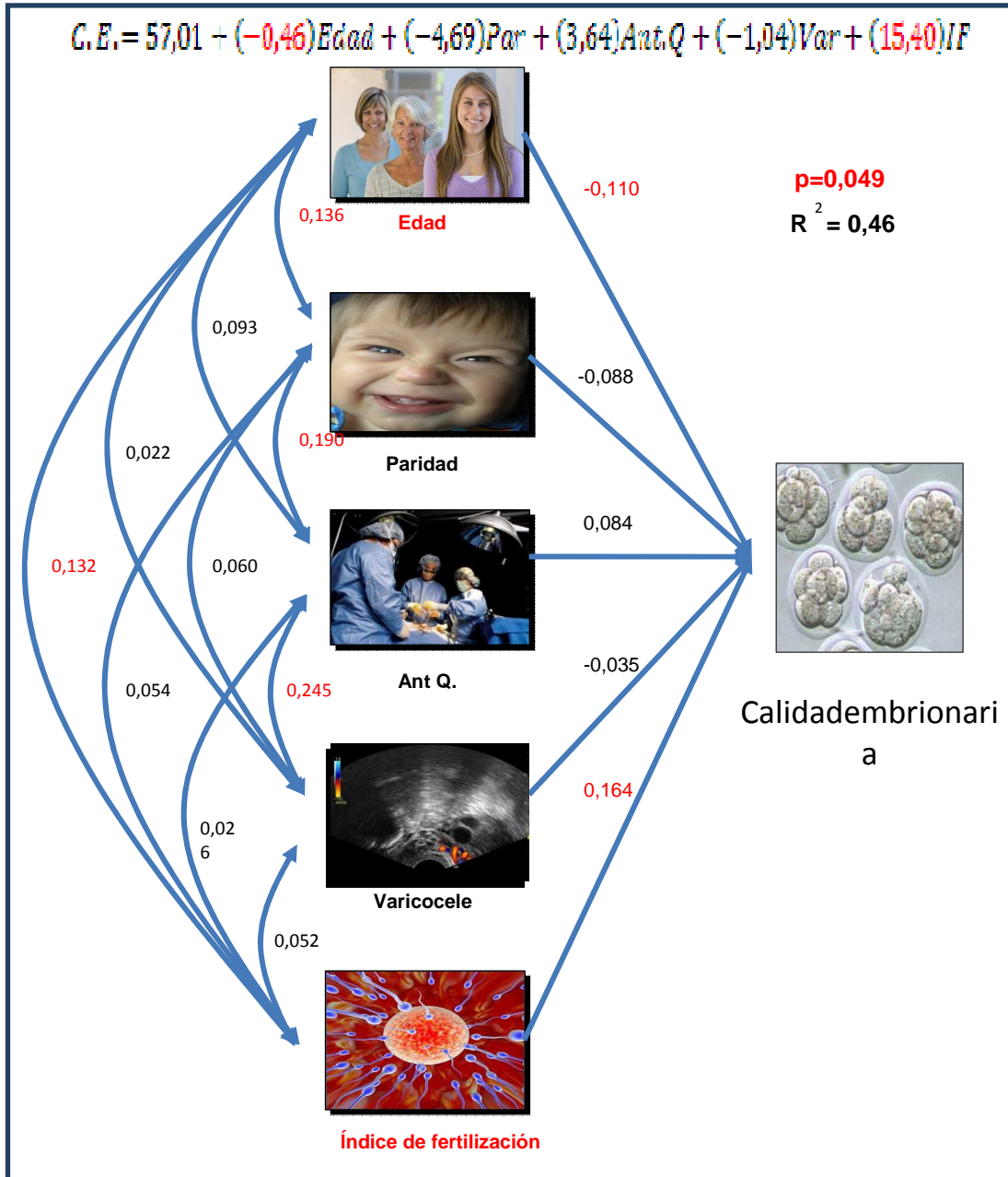


Figura 8: Análisis de rutas en el cual se refleja la influencia de las variables independientes (edad, paridad, antecedentes quirúrgicos ginecológicos, varicocele e índice de fertilización) sobre la calidad embrionaria de las pacientes control y con varicocele pelviano. Las líneas rectas corresponden al coeficiente de regresión parcial estandarizado de las variables independientes sobre la variable dependiente y las líneas curvas corresponden al coeficiente de correlación de Pearson de las variables independientes. En la parte superior esta descrita la ecuación de regresión utilizando los coeficientes de regresión parcial no estandarizados. Se señala en rojo las correlaciones con un $p < 0,050$.

B. Análisis de rutas discriminando en grupos etarios (pacientes menores y mayores de 38 años de edad).

Se realizó la regresión lineal múltiple y el análisis de rutas discriminando entre pacientes control y con varicocele pelviano, menores de 38 años de edad (Figura 9 y; Tabla 9). En este modelo de regresión lineal múltiple el coeficiente de determinación nos permite inferir que un 47% de la variabilidad de la calidad embrionaria en las pacientes menores de 38 años está asociada a cambios en las variables predictoras consideradas ($R^2=0,47$; Figura 9).

Al interpretar los coeficientes de regresión parcial no estandarizados de la regresión lineal múltiple de las pacientes menores de 38 años de edad, se destacó la relación entre el índice de fertilización con el score de calidad embrionaria, encontrando que por cada cambio unitario del índice de fertilización aumenta 25,3 unidades el score de calidad embrionaria ($b_{IF}=0,267$; Tabla 9).

En la figura 9, observamos que la variable con mayor influencia es el índice de fertilización ($b_{IF}^*=0,27$).

Tabla 9: Coeficientes de regresión de la regresión lineal múltiple para evaluar las relaciones de las variables independientes (edad, paridad, antecedentes quirúrgicos ginecológicos, varicocele e índice de fertilización) con la calidad embrionaria (score de calidad embrionaria) de las pacientes control y con varicocele pelviano, menores de 38 años de edad. Los coeficientes de regresión parcial estandarizados indican que el índice de fertilización y la calidad embrionaria presentan un proporcional (p < 0,05). En rojo se marcan las relaciones estadísticamente significativas (p < 0,05).

	Coeficiente de regresión parcial estandarizado	Coeficiente de regresión parcial	P
Punto de corte		39,21	0,01
Edad	-0,02	-0,09	0,85
Par	-0,10	-5,90	0,24
Ant. Q	0,05	1,97	0,59
Var	0,00	0,01	1,00
IF	0,27	25,30	0,00

En la Figura 9, se muestra enuncia la ecuación de regresión lineal múltiple, con los coeficientes de regresión parcial no estandarizados, que describe la calidad embrionaria en pacientes control y con varicocele pelviano, menores de 38 años de edad.

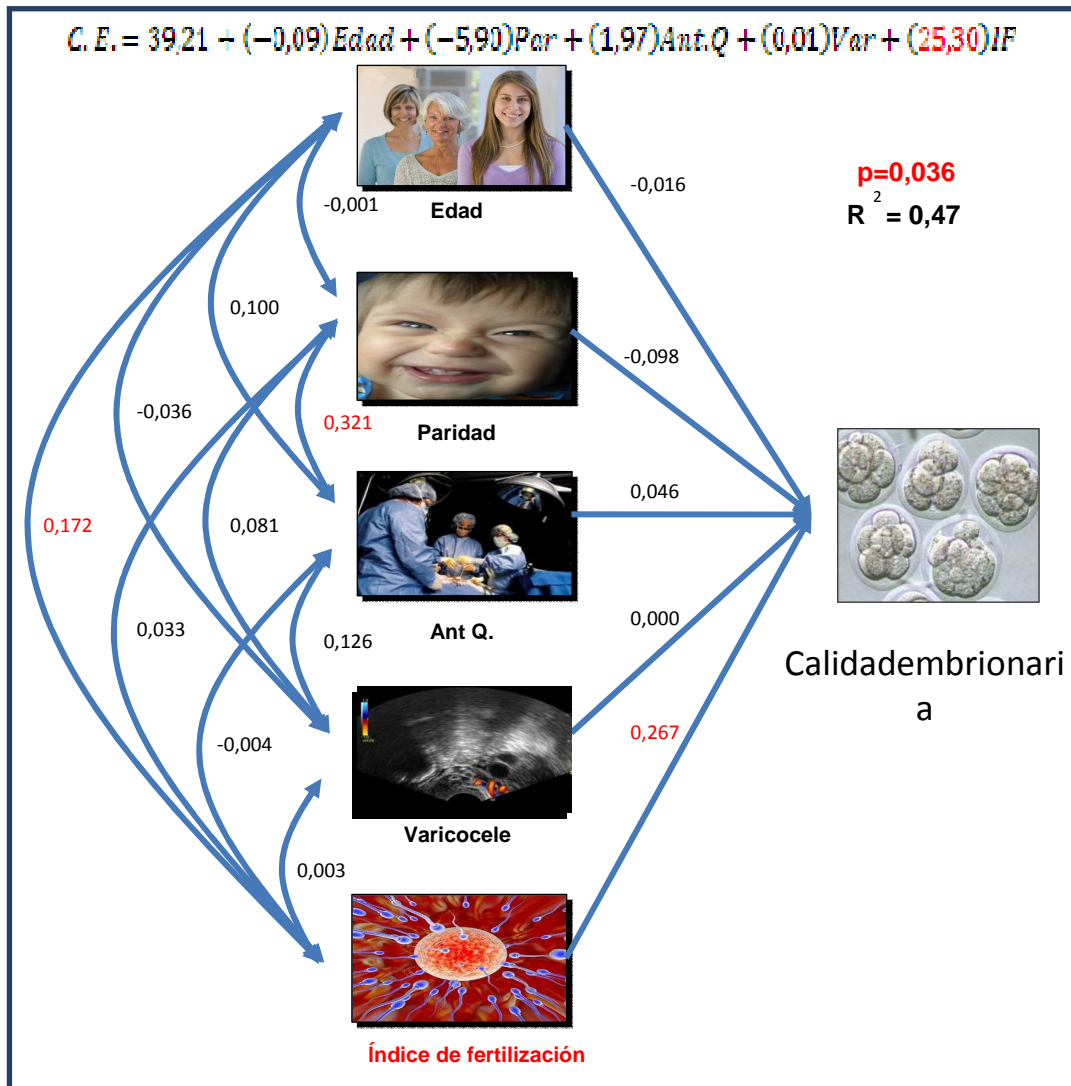


Figura 9: Análisis de rutas en el cual se refleja la influencia de las variables independientes (edad, paridad, antecedentes quirúrgicos ginecológicos, varicocele e índice de fertilización) sobre la calidad embrionaria de las pacientes control y con varicocele pelviano, menores de 38 años de edad. Las líneas rectas corresponden al coeficiente de regresión parcial estandarizado de las variables independientes sobre la variable dependiente y las líneas curvas corresponden al coeficiente de correlación de Pearson de las variables independientes. En la parte superior está descrita la ecuación de regresión utilizando los coeficientes de regresión parcial no estandarizados. Se señala en rojo las correlaciones con un $p < 0,050$.

Por otra parte, al intentar realizar la regresión lineal múltiple del score de calidad embrionaria en las pacientes control y con varicocele pelviano, mayores de 38 años de edad, se obtuvo $R^2 = 0,03$ ($p = 0,644$). En consecuencia, tan solo aproximadamente un 3% de la variabilidad de la calidad embrionaria en las pacientes mayores de 38 años en este análisis está asociada a cambios en las variables predictoras consideradas por ende no existe una regresión en el sistema planteado.

4. Embarazo.

El embarazo en la técnica de reproducción humana asistida e *in vivo* evidencia que ha ocurrido una correcta fecundación del ovocito e implantación del embrión. Muchos factores pueden afectar estos procesos, entre ellos tenemos, la calidad ovocitaria y calidad embrionaria (evaluadas anteriormente).

- Comparación del porcentaje de embarazo en las pacientes control y con varicocele pelviano:

En la Figura 10, se observó que el porcentaje de pacientes embarazadas después del procedimiento es menor en el grupo con varicocele pelviano (27%) respecto al grupo control (47,6%), esta diferencia es estadísticamente significativa (Apéndice 3: Tabla 29).

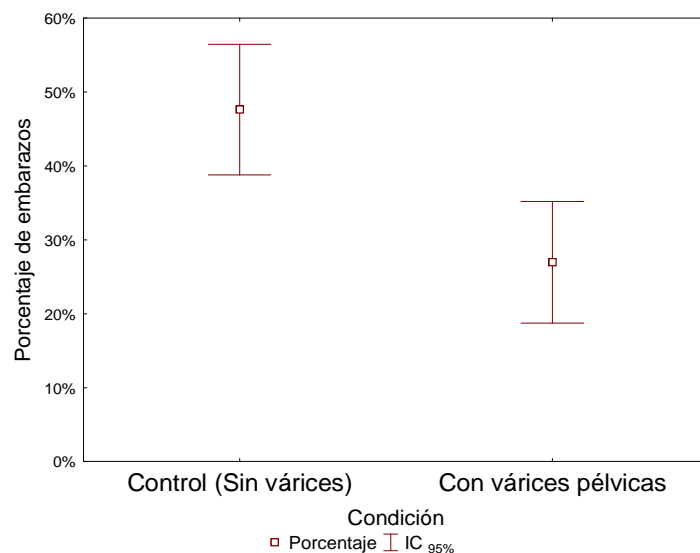


Figura 10: Gráfica de porcentaje de pacientes embarazadas de según su condición (grupos de pacientes control y con varicocele pelviano). La gráfica muestra el porcentaje de pacientes embarazada en menor en las pacientes con varicocele pelviano ($p < 0,05$). El punto corresponde al porcentaje y las barras corresponden al intervalo de confianza del 95%.

Al discriminar en pacientes control y con varicocele pelviano, mayores o menores de 38 años de edad, se encontró que el mayor porcentaje de mujeres que quedaron embarazadas esta en el grupo de las pacientes control menores de 38 años (Figura 11).

En la Figura 11, se observó una tendencia de disminuir el porcentaje de embarazos a medida que aumenta la edad de la paciente y cuando las pacientes presentan varicocele pelviano.

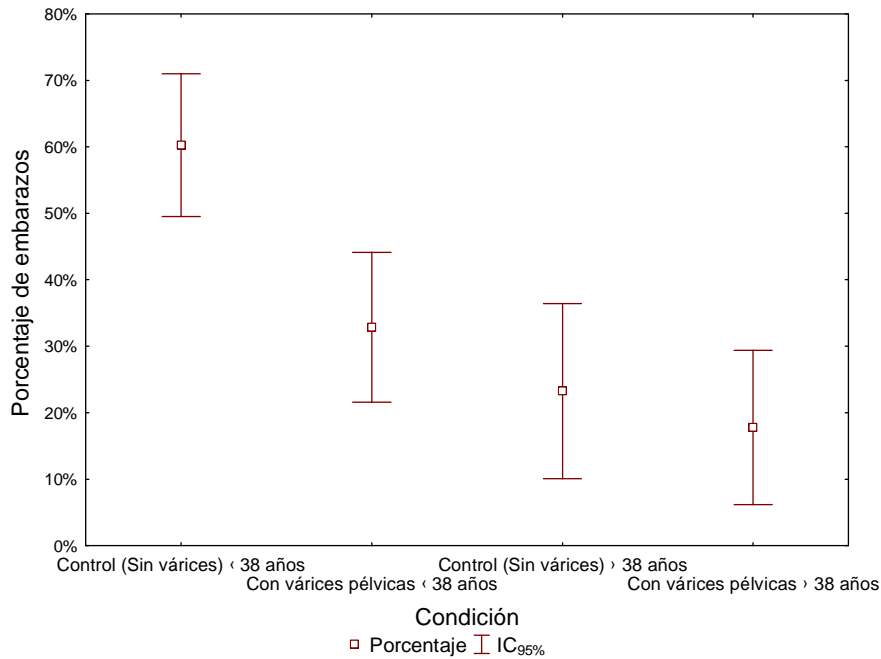


Figura 11: Gráfica de porcentaje de pacientes embarazadas de según su condición (grupos de pacientes control y con varicocele pelviano) y la edad de la paciente (grupos de pacientes control y con varicocele pelviano, mayores y menores de 38 años de edad). Se puede notar que en las pacientes control menores de 38 años de edad el porcentaje de embarazos es mayor que en el resto de los grupos ($p < 0,05$). El punto corresponde al porcentaje y las barras corresponden al intervalo de confianza del 95%.

Al evaluar el porcentaje de embarazos en las pacientes con varicocele pelviano la edad no es un factor limitante, ya que pacientes menores y mayores de 38 años presentan un bajo y similar porcentaje de embarazos (Figura 11).

- Regresión logística múltiple y esquema de relaciones:

Uno de los problemas más usuales que se presentan en biología y en otras ciencias es aquel en el cual intentamos predecir un evento que solo tiene dos posibilidades, puede ocurrir o no, y no existen casos intermedios, como en las mujeres, es el caso de los embarazos. Hay varias técnicas estadística que permiten solventar este problema. Las más comunes son el análisis discriminante múltiple y la regresión logística simple o

múltiple. La regresión logística es una técnica flexible y no requiere condiciones tan estrictas de los datos como el análisis discriminante múltiple y, permite que las variables independientes sean prácticamente de cualquier tipo ya sean: normales, categóricas u ordinales e incluso variables cualitativas de solo dos estados (Bulla. 1995).

La regresión logística será utilizada para ver el efecto de las variables independientes (edad, paridad (par), antecedentes quirúrgicos ginecológicos (Ant. Q), varicocele (var), índice de fertilización (IF) y embriones transferidos (TX) sobre la posibilidad de éxito de embarazo (β HCG) en todas las pacientes y luego discriminando entre grupos etarios. En vista, que el análisis de rutas es una extensión de la regresión lineal múltiple y está limitado a descriptores cuantitativos (Legendre y Legendre. 1998), se realizó un esquema en el cual se visualizan las relaciones existentes entre las variables.

Los Odds arrojados por una regresión logística múltiple son una medida del tamaño del efecto de la variable.

A. Regresión logística múltiple y esquema de relaciones general.

A continuación, se muestra la ecuación de regresión logística correspondiente a la evaluación del embarazo en las pacientes control y con varicocele pelviano:

$$\beta HCG = \frac{e^{(2,982+(-0,123)Edad+0,354Paridad+0,256Ant.Q+(-0,770)Var+(-0,134)IF+0,554TX)}}{1 + e^{(2,982+(-0,123)Edad+0,354Paridad+0,256Ant.Q+(-0,770)Var+(-0,134)IF+0,554TX)}}$$

Mediante, el análisis de los Odds ratio obtenidos de la regresión logística múltiple de las pacientes control y con varicocele pelviano, se demostró que la edad (0,885), el varicocele pelviano (0,099), y la cantidad de embriones transferidos (5,11) modifican la probabilidad de quedar embarazada de las pacientes ($p < 0.05$, Tabla 10 y Figura 12).

Tabla 10: Tabla derivada de la regresión logística múltiple para evaluar las relaciones de las variables independientes (edad, paridad, antecedentes quirúrgicos ginecológicos, varicocele, índice de fertilización y embriones transferidos) sobre el embarazo presente en pacientes control y con varicocele pelviano. Los Odds ratio muestran que la edad de las pacientes y la presencia de varicocele pelviano disminuye significativamente ($p < 0,05$) el éxito de embarazo de la paciente. También, que por cada embrión transferido las pacientes tienen 5 veces más de probabilidades de quedar embarazada ($p < 0,05$).

	Const.B0	Edad	Par	Ant. Q	Var	IF	TX
Estimador	2,982	-0,123	0,354	0,256	-0,77	-0,134	0,544
Error estándar	1,124	0,03	0,365	0,301	0,233	0,643	0,25
P	0,009	0	0,333	0,396	0,001	0,835	0,03
Odds ratio	19,718	0,885	1,425	1,667	0,099	0,874	5,115
-95%	2,153	0,834	0,694	0,51	0,025	0,247	1,169
95%	180,547	0,938	2,925	5,451	0,393	3,102	22,388

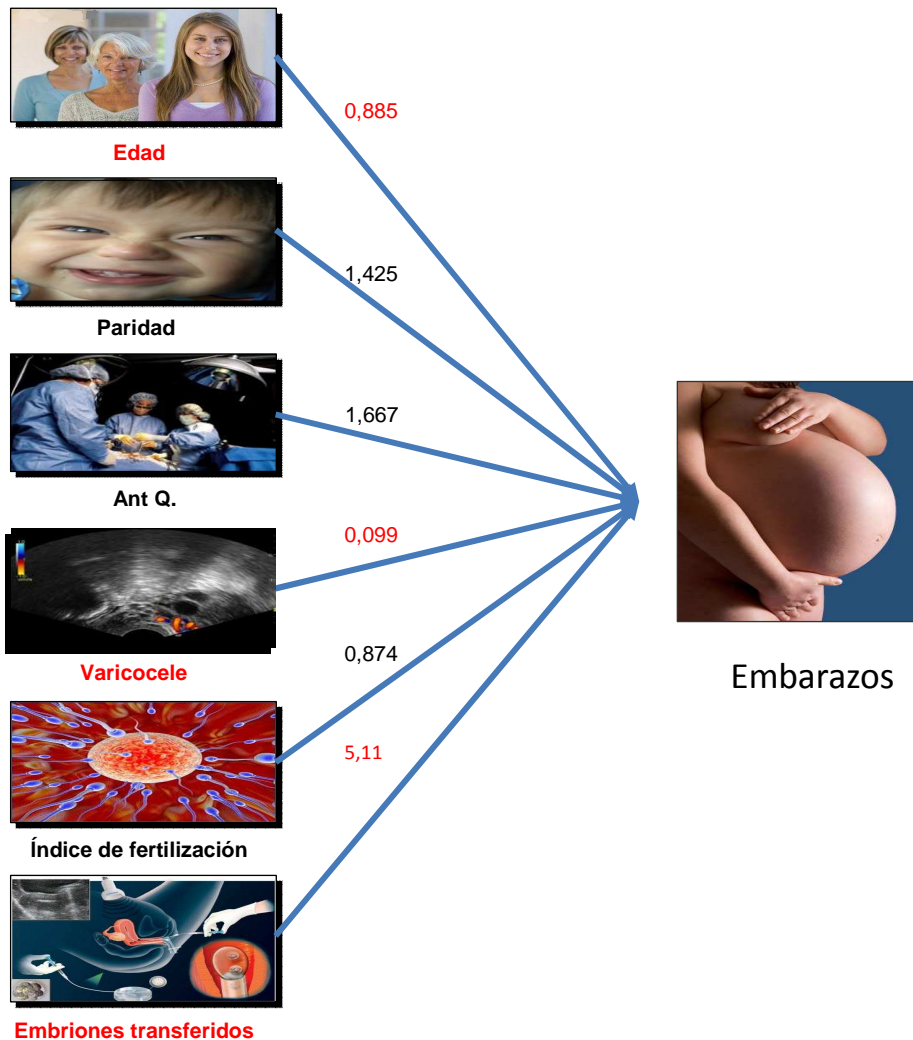


Figura 12: Esquema de relaciones en el cual se reflejan la influencia de las variables independientes (edad, paridad, antecedentes quirúrgicos ginecológicos, varicocele, índice de fertilización y embriones

transferidos) sobre el embarazo de las pacientes control y con varicocele pelviano. Las líneas rectas corresponden a los Odds ratios, de cambio unitario o de rango. Se señalan en rojo los $p < 0,05$.

En la tabla 11, se observa como la ecuación de manera global predice adecuadamente el 67,63% de los embarazos positivos y negativos.

Tabla 11: Tabla de clasificación de los casos. En la cual se observa si la regresión predice adecuadamente el éxito o no del embarazo en las pacientes control y con varicocele pelviano. La ecuación predijo adecuadamente 39 embarazos positivos y erró 52, lo que da una eficiencia de predicción de 42,86%. En los casos de embarazo negativo estudiados predijo como positivo 26 (se equivoco) y acertó 124 casos, produciendo una eficiencia del 82,67 %. La eficiencia global de predicción fue calculada y es del 67,63%. En la tabla los 0 corresponden a pruebas de embarazo negativas y los 1 a embarazos exitosos.

		Predichos		Porcentaje de correctos
		0	1	
Obsv.	0	124	26	82,67
	1	52	39	42,86

B. Regresión logística múltiple y esquema de relaciones discriminando en grupos etarios (pacientes menores y mayores de 38 años de edad).

A continuación, se muestra la ecuación de regresión logística correspondiente a la evaluación del embarazo presente en las pacientes control y con varicocele pelviano, menores de 38 años de edad:

$$\beta_{HCG} = \frac{e^{(0,606+(-0,050)Edad+(-0,846)Paridad+0,662Ant.Q+(-0,177)Var+(-0,259)IF+0,726TX)}}{1 + e^{(0,606+(-0,050)Edad+(-0,846)Paridad+0,662Ant.Q+(-0,177)Var+(-0,259)IF+0,726TX)}}$$

En las pacientes menores de 38 años de edad, los Odds ratio del efecto del varicocele pelviano (0,99) y los embriones transferidos (8,819) sobre el éxito del embarazo, continúan siendo estadísticamente significativos ($p < 0,05$, Tabla 12 y Figura 13) al igual que cuando se evalúan las pacientes en general.

Tabla 12: Tabla derivada de la regresión logística múltiple para evaluar las relaciones de las variables independientes sobre el éxito del embarazo presente en pacientes control y con varicocele pelviano, menores de 38 años de edad. Los Odds ratio muestran que la presencia de varicocele pelviano disminuye significativamente ($p < 0,05$) la probabilidad de embarazo en las pacientes. También, que por cada embrión transferido las pacientes tienen 8,819 veces más de probabilidades de quedar embarazada ($p < 0,05$).

	Const.B0	Edad	Var	Par	Ant. Q	IF	TX
Estimador	0,606	-0,05	-0,846	0,662	-0,177	-0,259	0,726
Error estándar	1,559	0,048	0,277	0,517	0,368	0,799	0,34
P	0,698	0,294	0,003	0,203	0,631	0,747	0,034
Odds ratio	1,833	0,951	0,079	1,938	0,702	0,772	8,819
-95%	0,084	0,865	0,015	0,697	0,164	0,159	1,177
95%	39,958	1,045	0,409	5,39	3,001	3,748	66,077

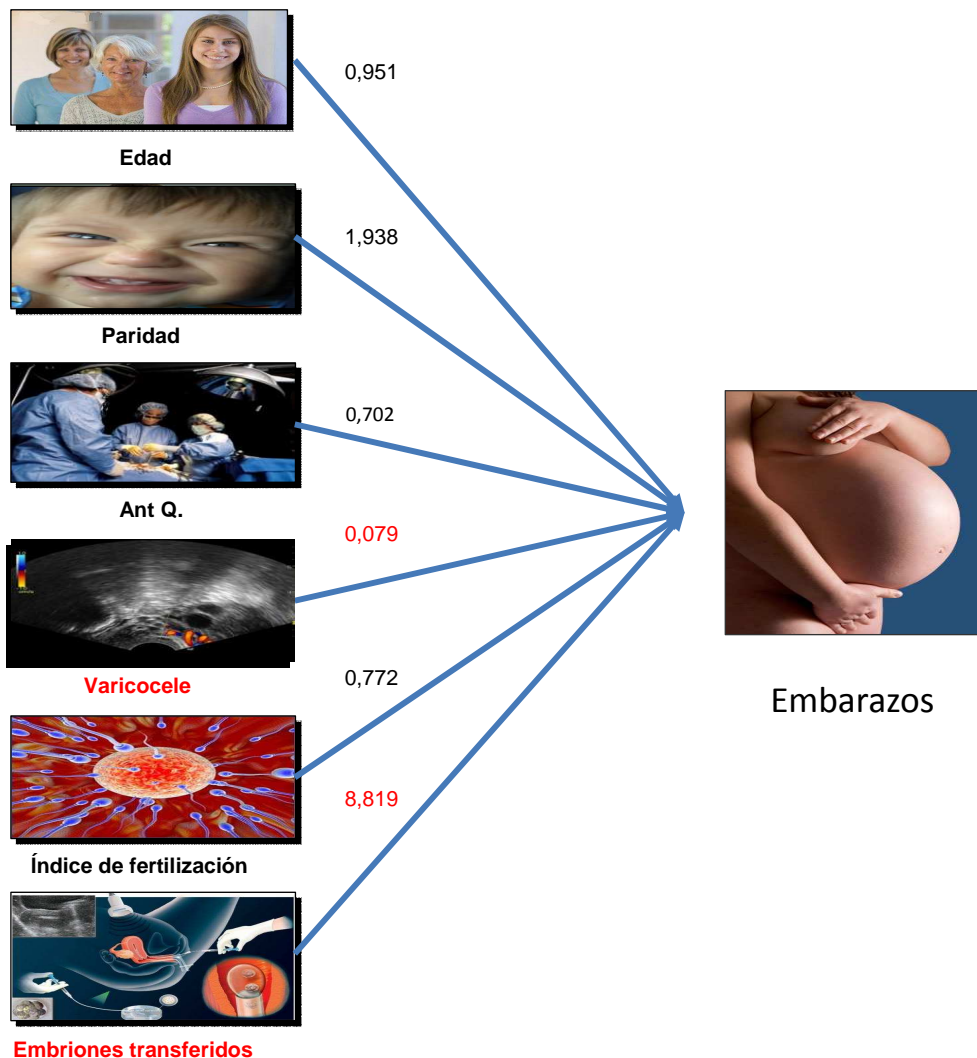


Figura 13: Esquema de relaciones en el cual se reflejan las influencias de las variables independientes sobre la probabilidad de embarazo de las pacientes control y con varicocele pelviano, menores de 38 años de edad.

edad. Las líneas rectas corresponden a los Odds ratios, de cambio unitario o de rango. Se señalan en rojo los $p < 0,05$.

En la tabla 13, se observa como la ecuación de manera global predice adecuadamente el 60,13% de los embarazos positivos y negativos.

Tabla 13: Tabla de clasificación de los casos. En la cual se observa si la regresión predice adecuadamente el éxito o no del embarazo en las pacientes control y con varicocele pelviano, menores de 38 años de edad. La ecuación predijo adecuadamente 44 embarazos positivos y erró 29, lo que da una eficiencia de predicción de 60,27%. En los casos de embarazo negativo estudiados predijo como positivo 32 (se equivoco) y acertó 48 casos, produciendo una eficiencia del 60,00 %. La eficiencia global de predicción fue calculada y es del 60,13%. En la tabla los 0 corresponden a pruebas de embarazo negativas y los 1 a embarazos exitosos.

		Predichos		Porcentaje de correctos
		0	1	
Obsv.	0	48	32	60,00
	1	29	44	60,27

A continuación, se muestra la ecuación de regresión logística por la que se describe el embarazo presente en las pacientes control y con varicocele pelviano, mayores de 38 años de edad:

$$\beta_{HCG} = \frac{e^{((-12,326)+0,332Edad+(0,959)Par+(-0,288)Ant.Q+(-1,465)Var+(0,702)IF+0,028TX)}}{1 + e^{((-12,326)+0,332Edad+(0,959)Par+(-0,288)Ant.Q+(-1,465)Var+(0,702)IF+0,028TX)}}$$

En las pacientes mayores de 38 años de edad, se destacó por su significancia el Odds ratio (0,230) que refleja la relación inversa existente entre los antecedentes quirúrgicos ginecológicos y los embarazos (Tabla 14 y Figura 14).

Tabla 14: Tabla derivada de la regresión logística múltiple para evaluar las relaciones de las variables independientes sobre los embarazos presentes en pacientes control y con varicocele pelviano, mayores de 38 años de edad. Los Odds ratio muestran que los antecedentes quirúrgicos causan disminuciones estadísticamente significativas ($p < 0,05$) de los embarazos en las pacientes.

	Const.B0	Edad	Var	Par	Ant. Q	IF	TX
Estimador	-12,326	0,332	0,959	-0,288	-1,465	0,702	0,028
Error estándar	8,495	0,21	0,525	0,589	0,721	1,202	0,426
P	0,151	0,118	0,071	0,626	0,045	0,561	0,947
Odds ratio	0	1,393	17,772	0,75	0,231	2,018	1,029
-95%	0	0,918	0,774	0,232	0,055	0,185	0,441

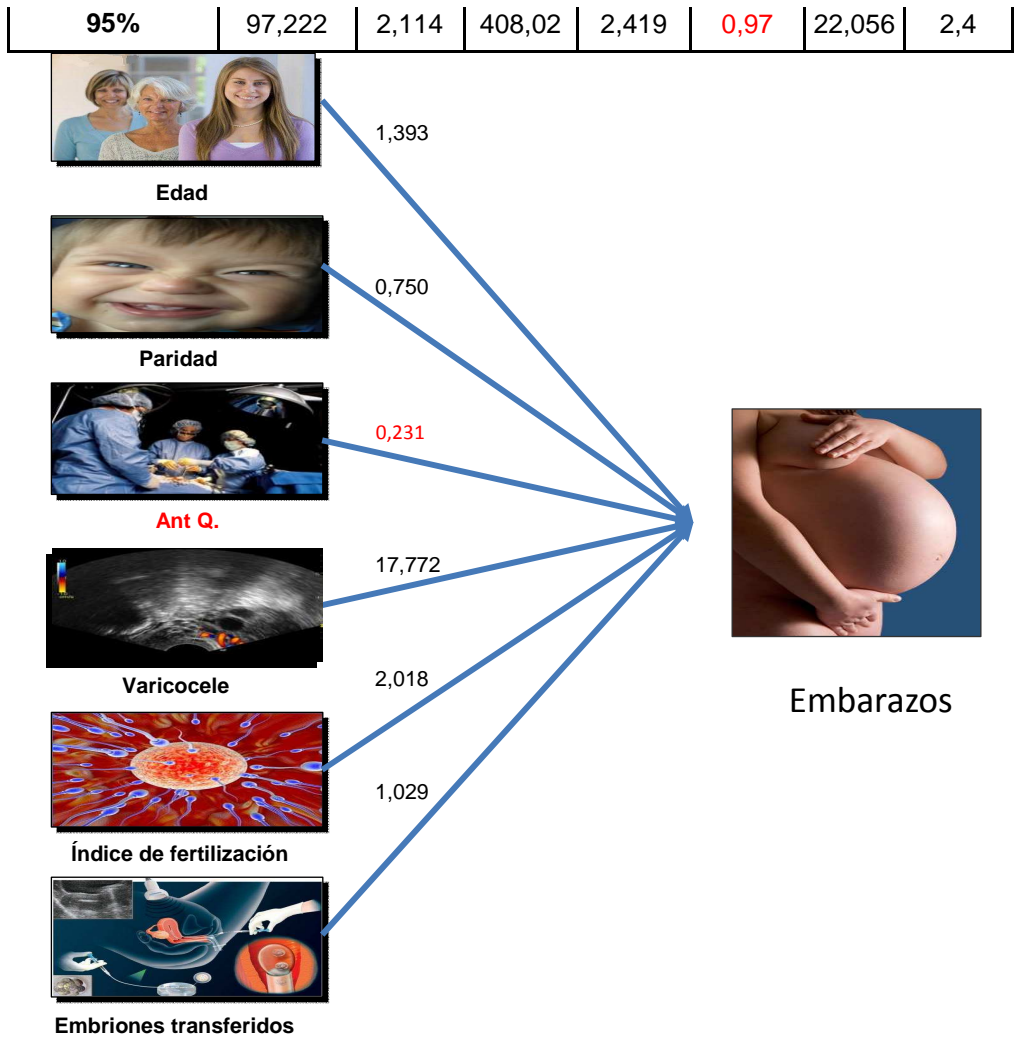


Figura 14: Esquema de relaciones en el cual se reflejan las influencias de las variables independientes en los embarazos de las pacientes control y con varicocele pelviano, mayores de 38 años de edad. Las líneas rectas corresponden a los Odds ratios, de cambio unitario o de rango. Se señalan en rojo los $p < 0,05$.

En la tabla 15, se muestra como la ecuación de manera global predice adecuadamente el 78,4% de los embarazos positivos y negativos.

Tabla 15: Tabla de clasificación de los casos. En la cual se observa si la regresión predice adecuadamente los embarazos presentes en las pacientes control y con varicocele pelviano, mayores de 38 años de edad. La ecuación predijo adecuadamente 2 embarazos positivos y erró 16, lo que da una eficiencia de predicción de 11,11%. En los casos de embarazo negativo estudiados predijo como positivo 3 (se equivocó) y acertó 67 casos, produciendo una eficiencia del 95,71%. La eficiencia global de predicción fue calculada y es del 78,4%. En la tabla los 0 corresponden a pruebas de embarazo negativas y los 1 a embarazos exitosos.

		Predichos		Porcentaje de correctos
		0	1	
Obsv.	0	67	3	95,71

	1	16	2	11,11
--	---	----	---	-------

5. Estudio de las relaciones del sistema.

La tabla presentada a continuación, resume algunos de los resultados expuestos anteriormente e incluye nuevos resultados. En la tabla 16, se puede corroborar la disminución estadísticamente significativa del índice de ovocitos normales ($\mu_{\text{control}}=40,69$ vs. $\mu_{\text{varicocele}}=31,83$) y el embarazo en pacientes con varicocele pelviano (47,6% de embarazos pacientes control vs. 27% de embarazos en pacientes con varicocele pelviano).

Es importante resaltar que la paridad, el procedimiento, la edad, el índice de fertilización y los embriones transferidos, no exhiben diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos, por lo que no explican los resultados obtenidos en las secciones anteriores.

También, podemos notar que el sangrado moderado y severo solo está presente en las pacientes con varicocele pelviano, el cual podría traer graves complicaciones, como la morbilidad de las pacientes (Shalev y col. 2004). Adicionalmente, se calculó el riesgo relativo de sangrado en las pacientes con varicocele pelviano y se pudo evidenciar que tienen 117 veces más de probabilidad de sangrar (sangrado moderado y severo) que una paciente sana.

En lo que respecta a los antecedentes quirúrgicos ginecológicos, tenemos que de las pacientes con varicocele pelviano un 56% de ellas han sido expuestas a estos procedimientos. Mientras, que en las pacientes control solo 26% de ellas se han sometido a estos procedimientos. Este hecho, también podría explicar las variaciones mencionadas anteriormente del índice de ovocitos normales y los embarazos.

Tabla 16: Estudio comparativo para las variables: edad, procedimiento, paridad, antecedentes quirúrgicos ginecológicos, sangrado, número de ovocitos aspirados, índice de ovocitos normales, índice de fertilización, score de la calidad embrionaria, número de embriones transferidos y embarazos; en grupos de pacientes control y con varicocele pelviano. La última columna corresponde a pruebas estadísticas (Chi-cuadrado y ANOVA) que permiten conocer si existen diferencias significativas entre ambos grupos. En rojo se marcan las diferencias estadísticamente significativas.

	Control	Varicocele Pelviano	Prueba estadística (≠)
Edad > 38 años	34.1%	39.1%	$X^2=0.64$, $g_L=1$, $p=0.42$
Procedimiento (ICSI)	64.3%	69.6%	$X^2=0.75$, $g_L=1$, $p=0.85$
Paridad	21.4%	20.9%	$X^2=0.011$, $g_L=1$, $p=0.92$
Antecedentes quirúrgicos	27.8%	56%	$X^2=20.97$, $g_L=$, $p=0.00$
Sangrado moderado y severo	0%	39%	$X^2=50.98$, $g_L=2$, $p=0.00$
Número de ovocitos aspirados	26.95 (± 31.49)	23.91 (± 36.02)	$F=0.486$, $p=0.64$
Índice de ovocitos normales	40.69 (± 28.45)	31.83 (± 25.75)	$F=4.236$, $p=0.01$
Índice de fertilización	0.676 (± 0.225)	0.675 (± 0.242)	$F=0.002$, $p=0.98$
Score de calidad embrionaria	51.69 (± 22.49)	50.24 (± 21.29)	$F=0.265$, $p=0.60$
Número de ovocitos transferidos	27.8%	15.7%	$X^2=73.46$, $g_L=67$, $p=0.28$
Embarazos	47.6%	27%	$X^2=10.92$, $g_L=1$, $p=0.001$

Las secciones 1, 2, 3 y 4 de resultados en este trabajo evidenciaron las relaciones existen entre: el número de ovocitos aspirados, la calidad ovocitaria, calidad embrionaria y embarazos con las variables independientes. Finalmente, las correlaciones presentadas a continuación (Tabla 17, 18 y 19), corroboraron estos resultados y además permitieron demostrar las relaciones existentes entre las tres variables dependientes consideradas.

En las pacientes control y con varicocele pelviano encontramos que (Tabla 17):

- Al avanzar la edad de la mujer disminuye la reserva folicular (ovocitos aspirados ($r=-0,24$) y el índice de ovocitos normales ($r=-0,27$)) y la posibilidad de quedar embarazada ($r_{bp}=-0,26$; $p < 0,050$). A pesar, de que son bajas las correlaciones es importante destacarlas por la importancia biológica que presentan estas relaciones.

- El varicocele pelviano tiene una baja correlación negativa con el índice de ovocitos normales ($r_b=-0,19$) y la posibilidad de embarazo ($\phi=0,20$), aunque al tener en consideración los análisis anteriores conocemos que estas relaciones son sumamente importantes. Sin embargo, el varicocele pelviano se correlaciona positivamente con el sangrado ($\phi=0,27$) que presentan las mujeres al momento de la aspiración folicular ($p < 0,050$).
- Los antecedentes quirúrgicos tienen una baja correlación positiva con la paridad ($\phi=0,17$) y con el varicocele pelviano ($\phi=0,27$), y negativa con el índice de ovocitos normales ($p < 0,050$).
- Existe una baja correlación positiva (ϕ de Cramer= $0,22$) entre los embriones que se transfieran y la probabilidad de embarazos ($p < 0,050$).
- Por último, se observó que no existe correlación ($p > 0,050$) entre el aumento de la posibilidad que tienen las pacientes de quedar embarazadas con el incremento de la calidad ovocitaria ($r_{bp}=0,01$) y de la calidad embrionaria (ϕ de Cramer= $0,15$: $p > 0.05$, Tabla 17).

Tabla 17: Correlaciones existentes entre todas las variables en estudio, en pacientes control y con varicocele pelviano. Las correlaciones marcadas en rojo son significantes a $p < 0,050$. Para distinguir el coeficiente de correlación empleado se usaron los siguientes superíndices: ^APearson, ^Bbiserial, ^Cbiserial puntual, ^Dphi y ^Ephi de Cramer.

	Var	Par	Ant. Q	San	# Ovo	I _{ON}	IF	C.E.	TX	BHCG
Edad	0,03 ^B	0,09 ^C	0,13 ^C	0,11 ^B	-0,24 ^A	-0,27 ^A	0,18 ^A	-0,06 ^A	0,07 ^A	-0,26 ^C
	Var	0,02 ^D	0,27 ^D	0,47 ^D	0,04 ^E	-0,19 ^B	-0,07 ^B	0,07 ^E	-0,09 ^E	-0,20 ^D
		Par	0,17 ^D	-0,05 ^D	-0,06 ^E	-0,04 ^C	-0,03 ^C	-0,07 ^E	0,00 ^E	0,01 ^D
			Ant. Q	0,12 ^D	-0,13 ^E	-0,19 ^C	0,00 ^C	0,08 ^E	-0,01 ^E	-0,03 ^D
				San	-0,06 ^E	-0,14 ^B	0,05 ^B	-0,02 ^E	-0,07 ^E	-0,02 ^D
					# Ovo	-0,06 ^A	-0,27 ^A	0,35 ^E	0,34 ^E	0,07 ^E
						I _{ON}	0,14 ^A	-0,05 ^A	-0,03 ^A	0,01 ^C
							IF	0,10 ^A	0,21 ^A	-0,05 ^C
								C.E.	0,63 ^E	0,15 ^E
									TX	0,22 ^E

Cuando solo evaluamos aquellas pacientes control y con varicocele pelviano, menores de 38 años de edad se encontró (Tabla 18):

- Que el varicocele pelviano causa una disminución estadísticamente significativa de la posibilidad de embarazo ($\phi=-0,20$; $p < 0,050$), cabe destacar que a pesar de ser una baja correlación es de gran importancia biológica. También, el varicocele pelviano aumenta el sangrado en las pacientes ($\phi=0,47$; $p < 0,050$).
- Entre la paridad y los antecedentes quirúrgicos existe una baja correlación($\phi=0,17$; $p < 0,050$).
- Mientras más embriones se transfieren aumentan la probabilidad de quedar embarazada de la paciente (ϕ de Cramer= $0,22$; $p < 0,050$).

Tabla 18: Correlaciones existentes entre todas las variables en estudio, en pacientes control y con varicocele pelviano, menores de 38 años de edad. Las correlaciones marcadas en rojo son significantes a $p < 0,050$. Para distinguir el coeficiente de correlación empleado se usaron los siguientes superíndices: ^APearson, ^Bbiserial, ^Cbiserial puntual, ^Dphi y ^Ephi de Cramer.

	Var	Par	Ant. Q	San	# Ovo	ION	IF	C.E.	TX	BHCG
Edad	-0,02 ^B	-0,08 ^C	0,06 ^C	0,05 ^B	-0,13 ^A	-0,10 ^A	0,26 ^A	0,10 ^A	0,24 ^A	-0,05 ^C
	Var	0,12 ^D	0,15 ^D	0,43 ^D	0,08 ^E	0,03 ^B	-0,05 ^B	0,13 ^E	-0,07 ^E	-0,24 ^D
		Par	0,24 ^D	-0,00 ^D	-0,05 ^E	0,03 ^C	-0,09 ^C	-0,04 ^E	0,04 ^E	0,08 ^D
			Ant. Q	-0,03 ^D	-0,13 ^E	-0,16 ^C	-0,02 ^C	0,09 ^E	-0,03 ^E	-0,08 ^D
				San	-0,02 ^E	0,28 ^B	0,10 ^B	0,03 ^E	-0,10 ^E	0,07 ^D
					# Ovo	-0,18 ^A	-0,20 ^A	0,29 ^E	0,36 ^E	0,04 ^E
						ION	0,18 ^A	-0,09 ^A	-0,23 ^A	-0,10 ^C
							IF	0,25 ^A	0,33 ^A	-0,01 ^C
								C.E.	0,60 ^E	0,14 ^E
									TX	0,25 ^E

Finalmente, en las pacientes control y con varicocele pelviano, mayores de 38 años de edad tenemos (Tabla 19):

- Que la edad de la paciente causa una disminución estadísticamente significativa de la posibilidad de embarazo en las pacientes ($r_{bp}=0,30$; $p < 0,050$).

- El varicocele pelviano se correlaciona positivamente con el sangrado presente en la aspiración folicular ($\rho=0,53$) y los antecedentes quirúrgicos ginecológicos ($\rho=0,48$; $p < 0,050$).

Tabla 19: Correlaciones existentes entre todas las variables en estudio, en pacientes control y con varicocele pelviano, mayores de 38 años de edad. Las correlaciones marcadas en rojo son significantes a $p < 0,050$. Para distinguir el coeficiente de correlación empleado se usaron los siguientes superíndices: ^APearson, ^Bbiserial, ^Cbiserial puntual, ^Dphi y ^Ephi de Cramer.

	Var	Par	Ant. Q	San	# Ovo	l _{ov}	IF	C.E.	TX	<u>BHCG</u>
Edad	-0,19 ^B	-0,09 ^C	0,01 ^C	-0,13 ^B	-0,16 ^A	-0,02 ^A	-0,01 ^A	-0,11 ^A	-0,05 ^A	-0,30 ^C
	Var	-0,16 ^D	0,48 ^D	0,53 ^D	0,00 ^E	-0,20 ^B	-0,12 ^B	0,00 ^E	-0,13 ^E	-0,06 ^D
		Par	0,01 ^D	-0,15 ^D	0,01 ^E	-0,11 ^C	0,00 ^C	-0,05 ^E	-0,02 ^E	0,03 ^D
			Ant.Q	0,31 ^D	-0,05 ^E	-0,20 ^C	-0,01 ^C	0,11 ^E	0,03 ^E	0,21 ^D
				San	-0,06 ^E	-0,18 ^B	-0,05 ^B	-0,06 ^E	-0,02 ^E	-0,07 ^D
					# Ovo	-0,11 ^A	-0,39 ^A	0,45 ^E	0,30 ^E	-0,06 ^E
						l _{ov}	0,29 ^A	-0,01 ^A	0,11 ^A	-0,07 ^C
							IF	-0,13 ^A	0,05 ^A	-0,07 ^C
								C.E.	0,70 ^E	0,06 ^E
									TX	0,14 ^E

DISCUSIÓN

La integración del ultrasonido Doppler a color con la sonda transvaginal (Hata y col. 1989) permite evaluar la vascularización de los órganos de la pelvis femenina (Kurjaj. 1990), esta innovadora tecnología ha abierto múltiples posibilidades de investigación (Vanrell y col. 2000), entre las que se han destacado, la mejor comprensión de algunas patologías, como lo es el caso del diagnóstico del varicocele pelviano (Gultaly y col. 2008).

El varicocele pelviano, dentro del área de la ginecología, tradicionalmente ha sido asociado principalmente a dos tipos de estudios, en primer lugar por su asociación con el síndrome de congestión pélvica (Mathias y col. 1996) y en segundo lugar por su correlación con la incidencia del sangrado al momento de una aspiración folicular (Shalev y col. 2004; Rísquez y col. 2010). No obstante, su relación con la fertilidad de la mujer no ha sido explorada, por esta razón la literatura existente actualmente, en la cual se analiza el varicocele pelviano con las afecciones que disminuyen la fertilidad de la mujer es escasa, constituyendo este esfuerzo de investigación un estudio innovador en esta área de estudio.

La discusión de los resultados se realizó con el mismo orden que la presentación de resultados, en ambos casos se buscó facilitar la comprensión al lector. Recordemos que se consideran 5 secciones, (¹número de ovocitos aspirados, ²calidad ovocitaria, ³calidad embrionaria, ⁴embarazos y ⁵las correlaciones existentes en el sistema estudiado) las primeras 4 engloban tanto el primer objetivo específico de esta investigación como parte del segundo objetivo específico, y la última complementa y culmina el segundo objetivo específico.

1. Número de ovocitos aspirados.

En esta sección, se analizó el número de ovocitos aspirados, en las pacientes control y con varicocele pelviano (Figura 1 y Tabla 1), con el uso un análisis de varianza (ANOVA) se buscaron las eventuales diferencias entre ambos grupos, encontrándose que no existen diferencias significativas (Apéndice 3: Tabla 23), es decir, a pesar de que el operador, en el momento de la aspiración de ovocitos, seleccionó una vía punción alternativa no existe una disminución de los ovocitos aspirados en las pacientes con varicocele pelviano. Con éxito el operador siempre logró la recuperación de la máxima cantidad de ovocitos y, esta es similar en ambos grupos de pacientes.

2. Calidad ovocitaria.

La calidad ovocitaria se considera uno de los aspectos más importantes a evaluar, ya que cualquier afección en ella podría repercutir en la fertilidad de las mujeres, entre los defectos morfológicos del ovocito tomados en cuenta en esta investigación, se incluyen anomalías en el espacio perivitelino, granularidad e inclusiones citoplasmáticas. Cabe destacar, que no es inusual encontrar variaciones en la granularidad de la morfología del ovocito, tales como áreas de necrosis, aglomeración de organelos, vacuolas, anomalías en el primer corpúsculo polar y la zona pelúcida, y ovocitos de forma no esférica. La importancia de la evaluación de estos parámetros recae en que estos han sido asociados con aneuploidías, fecundación anormal, mala calidad de los embriones y bajas tasas de embarazo e implantación. (Edwards y Rísquez, 2003).

La calidad ovocitaria se evaluó de forma no invasiva con base a la condición del primer cuerpo polar, el espacio perivitelino, el citoplasma y la zona pelúcida de los ovocitos, asignando una clasificación a las características visibles y se cuantificó en cada paciente mediante el índice de ovocitos normales. Una vez obtenido el índice de ovocitos normales, se demostró que en todas las pacientes (en general) disminuye

cuando presentan varicocele pelviano ($p < 0.05$; Figura 2, Tabla 2y 24). En vista, que las poblaciones en estudio han sido parejas infértiles, con y sin varicocele pelviano, es lógico suponer que las diferencias en el índice de ovocitos normales se puedan deber a la presencia de las várices. Más adelante, se evaluará la influencia que pudiesen tener el resto de las variables incluidas sobre este resultado. Una de las hipótesis que se podría plantear para justificar este resultado es que: el aporte sanguíneo a cada folículo puede afectar la cantidad de oxígeno disuelto en el líquido folicular y este a su vez la calidad de los ovocitos humanos (Edwards y Rísquez. 2003), lo que puede originarse por una estasis venosa, la asociación de ésta con el varicocele pelviano ha sido considerada en varios estudios (Jin y col. 2004).

Seguidamente, se realizó una distinción entre las pacientes menores y mayores de 38 años de edad (que se mantendrá también al momento de evaluar la calidad embrionaria y la cantidad de embarazos), ya que uno de los factores pronósticos más importantes en la fertilidad humana es la edad de la mujer, tanto por la disminución de la reserva ovárica como por la mayor frecuencia de patologías adquiridas (Sánchez. 2000). Un estudio realizado por Barri y col. en el año 2002 demuestran que al pasar de los 38 años de edad se acentúa la disminución de la reserva folicular, que incluye tanto el número de ovocitos como la calidad de los mismos.

Encontrándose, que la calidad ovocitaria es menor en las pacientes con varicocele pelviano mayores de 38 años ($p < 0,05$), en estos pacientes factores como la edad (Sánchez. 2000) y las várices pélvicas están presentes (Figura 3 y Tabla 3). Al realizar un ANOVA de 2 vías (Apéndice 3: Tabla25) se evidenció que existen diferencias significativas para las variables edad y condición de la paciente, también que la interacción de ambas variables no ejerce efectos significativos sobre el índice de ovocitos normales, aunque la prueba a posteriori de Duncan (Apéndice 3: Tabla 26) sugiere una tendencia de incrementar el varicocele pelviano con la edad de la paciente.

El efecto de la edad y el varicocele pelviano sobre el índice de ovocitos normales fue corroborado y cuantificado mediante el análisis de los coeficientes de regresión parcial no estandarizados y su significancia, obtenido a partir de las regresiones lineales múltiples realizadas. Cuando se consideraron las pacientes en general, los coeficientes de regresión parcial estandarizado y su significancia, demostraron que existe una relación inversamente proporcional entre la edad y la presencia del varicocele pelviano con el índice de ovocitos normales (Figura 4 y Tabla 4), es decir, la presencia del varicocele pelviano y la edad avanzada reducen la calidad ovocitaria. Desde otro punto de vista, se podría interpretar que aquellas pacientes jóvenes y sin varicocele pelviano tendrán la mejor calidad ovocitaria.

Luego de conocer que, la calidad ovocitaria se ve afectada en aquellas pacientes con varicocele pelviano, es de suma importancia evaluar si existen variaciones de la calidad embrionaria en los dos conjuntos de pacientes considerados en este estudio.

3. Calidad embrionaria.

La calidad embrionaria es un factor del pronóstico de implantación de los embriones por lo que su evaluación es de suma importancia, y a su vez, es un indicador indirecto de la calidad ovocitaria.

A continuación, se presentará la importancia de considerar los parámetros evaluados en el criterio de calidad embrionaria:

Los embriones humanos clivados en día 3 (día de transferencia embrionaria en esta investigación), producen embriones de ocho células. Muchas de las blastómeras originadas pueden presentar fragmentos algunos adyacentes al sitio de citocinesis. La fragmentación blastomérica, determinada para la clasificación de embriones según el criterio de Veeck (1999) por su potencial de implantación, es muy frecuente y puede estar entre los defectos más significativos de los embriones en división, ya sean innatos

o debidos a factores externos. La fragmentación se expresa como el porcentaje del volumen de los embriones ocupado por fragmentos. Entre los mayores problemas tenemos que puede repercutir en: la aparición de cromosomas rezagados o rotos por errores del huso (que son extruidos en los fragmentos) y la pérdida de proteínas polarizadas en fragmentos. Consecuentemente, la pérdida de proteínas polarizadas podría afectar las blastómeras de una manera desigual y alterar el potencial del desarrollo embrionario (Edwards y Rísquez. 2003).

La simetría de las blastómera es el otro parámetro evaluado en el criterio de clasificación embrionaria ideado por Veeck en 1999, la división desigual de las blastómeras es comúnmente encontrada en los cultivos *in vitro* de embriones humanos y es lo que genera tamaños desiguales de las blastómeras. El análisis genético de las blastómeras resultantes de una división desigual, se ha correlacionado con multi-nucleación, un mayor grado de aberración cromosómica y alteración de la distribución de las proteínas, ARNm y mitocondrias (Científicos alpha en Medicina Reproductiva y ESHERE. 2011).

La última afección considerada, fue la multi-nucleación de blastómeras, es decir, que contienen más de un núcleo en una interfase. La multi-nucleación es una anomalía que se presenta con frecuencia en los procesos *in vitro* entre los factores causantes se pueden incluir los medios de cultivo y las temperaturas de cultivo, y puede ocurrir por diferentes mecanismos: cariocinesis sin citocinesis y la fragmentación parcial de los núcleos, entre otros. Ésta ha sido correlacionada con un alto grado de aberración cromosómica, un mayor grado de fragmentación de las blastómeras y con el tamaño desigual de las blastómeras. Todos estos factores podrían inducir a bajas tasas de implantación, embarazo y parto (Científicos alpha en Medicina Reproductiva y ESHERE. 2011).

Este estudio permitió demostrar que en pacientes sometidas a FIV e ICSI la calidad embrionaria no se ve comprometida por la presencia de varicocele pelviano (Figura 6 y Tabla 6). Como se mencionó anteriormente, la calidad embrionaria es un indicador indirecto de la calidad ovocitaria, los resultados obtenidos en la sección anterior no se conservan ya que los criterios de clasificación empleados en ambos casos no están correlacionados (Tabla 17).

Cabe destacar, que este resultado no se ve influenciado por el procedimiento (FIV o ICSI) al cual fue sometida la pareja, debido a que no existen diferencias significativas entre ambos grupos por el procedimiento empleado (Tabla 16). De las pacientes control 64,3% se sometieron a procedimientos de ICSI y de las pacientes con varicocele pelviano 69,6%.

Además, los primeros signos de actividad génica propia del embrión, es decir, la sustitución de los mensajeros maternos del ovocito por los propios del embrión, ocurren en el tránsito de cuatro a ocho células. (Braude y col. 1988), aproximadamente, en el estadio embrionario de día 3 (transferencia embrionaria a la madre), ya que el desarrollo inicial de los embriones en células de mamíferos es regulado en genes maternos y proteínas heredadas del ovocito. Por lo que, el factor masculino (mala calidad espermática) en esta investigación no es determinante en la calidad embrionaria en el día 3 de desarrollo (Edwards y Rísquez. 2003).

La calidad embrionaria en pacientes control y con varicocele pelviano, menores y mayores de 38 años de edad, tampoco se afecta significativamente. Aunque por el factor edad, tiende ($p=0,06$; Apéndice 3: Tabla 28) a ser menor en aquellas pacientes mayores de 38 años de edad sin importar su condición (Figura 7 y Tabla 7).

La regresión lineal múltiple y el análisis de rutas, permitieron mediante el análisis de los coeficientes de regresión parcial no estandarizados y su significancia corroborar los

resultados expuestos anteriormente (Figura 8 y Tabla 8). También, se observó que existe una correlación positiva ($p < 0,05$), de la paridad y el varicocele pelviano con los antecedentes quirúrgicos ginecológicos. Es importante resaltar que, la primera correlación se debe a que, en este estudio se consideran las cesáreas como antecedentes quirúrgicos ginecológicos. La mayoría de las pacientes incluidas en esta investigación que han tenido hijos, han dado a luz mediante procedimientos de cesáreas.

Habiendo evaluado las relaciones existentes entre el número de ovocitos aspirados, la calidad ovocitaria y la calidad embrionaria, con el varicocele pelviano, es importante enfocarnos en el éxito de los embarazos que se reportaron en las pacientes.

4. Embarazo.

El embarazo que en algunos casos garantiza el éxito reproductivo de las pacientes, será evaluado a continuación, en aquellas pacientes con varicocele pelviano:

Encontrándose, que el porcentaje de embarazos exitosos en las pacientes incluidas en este estudio disminuyen ante la presencia varicocele pelviano ($p < 0.05$, Figura 10y Apéndice 3: Tabla 29). Es importante resaltar, que a pesar, que el factor masculino (pacientes sometidos a ICSI) afecta las tasas de implantación embrionaria y esta a su vez los embarazos (Braude y col. 1988), no es el responsable de esta variación, ya que en ambos grupos tenemos un número similar de pacientes sometidas a FIV e ICSI (Tabla 16), por lo que las diferencias encontradas, hasta este punto, en los embarazos se podrían justificar únicamente por la presencia de varicocele pelviano.

Una manera de sesgar al factor masculino sería con el uso de donantes de semen, aunque con esto no se evita la presencia de anomalías cromosómicas en los espermatozoides, que no se consideran en las evaluaciones rutinarias del semen, e igual pudiesen influir en los resultados del estudio.

Al distinguir entre pacientes controles y con varicocele pelviano, menores y mayores de 38 años de edad, encontramos que hay más probabilidad de quedar embarazada en las pacientes control menores de 38 años de edad. Consecuentemente, las pacientes con varicocele pelviano, menores de 38 años de edad tienen una posibilidad de quedar embarazada tan deficientes como aquellas pacientes mayores de 38 años con y sin varicocele pelviano (Figura 11).

Mediante la interpretación de los Odds ratio y su significancia obtenidos a partir de la regresión logística múltiple (Tabla 10), se pudo determinar que la posibilidad de embarazo disminuye por la edad maternal y el varicocele pelviano (como se mencionó anteriormente). En las pacientes por cada año más de vida que tengan la posibilidad de quedar embarazada cae al 88% de la edad anterior. Por otra parte, la presencia del varicocele pelviano en las pacientes hace que la posibilidad de quedar embarazada decaiga al 9% con respecto a las pacientes sin varicocele pelviano.

Adicionalmente, se demostró que hay más probabilidad de quedar embarazada la paciente al aumentar la cantidad embriones transferidos ($p < 0,05$), encontrándose que por cada embrión transferido la paciente tiene cinco veces y hasta 8 veces más de posibilidad de quedar embarazada (Figura 12 y 13, y Tabla 10 y 12). El aumento de embarazos conjuntamente con el de los embriones transferidos ha sido objeto de múltiples estudios con el fin de evitar los embarazos múltiples (Edwards y Rísquez. 2003). La mayoría de las clínicas temen tasas de embarazo bajas que a menudo se asocian con la transferencia de un número menor de embriones, por lo que hizo indispensable disponer de modelos de calidad embrionaria (Edwards y Rísquez. 2003).

Todas estas relaciones de las variables independientes sobre la cantidad de embarazos están descritas en una ecuación (sección 4 de resultados), que permite el cálculo la posibilidad de embarazo en las pacientes en general. Esta ecuación podría ser utilizada

como un pronóstico de embarazos, con un 67,63% de eficacia (Tabla 11), para las pacientes que se someten a tratamientos de reproducción asistida. Como se observó anteriormente la calidad ovocitaria y embrionaria, también están descritas por ecuaciones (Figura 4y 8), pero las pacientes se encuentran más interesadas de conocer su probabilidad de embarazo, que de variables más complejas.

Finalmente, serán evaluadas las correlaciones existentes entre todas las variables del sistema estudiado.

5. Estudio de las relaciones del sistema.

En esta sección, quedaron corroborados algunos de los resultados expuestos anteriormente, entre los más importantes tenemos que: la presencia de varicocele pelviano reduce tanto el índice de ovocitos normales como la posibilidad de embarazo en las pacientes en general con varicocele pelviano (Tabla 16 y 17).

Además, nuevos resultados fueron obtenidos, entre los cuales se destacan:

1. El sangrado moderado y severo al momento de la aspiración folicular solo está presente en aquellas pacientes con varicocele pelviano (Tabla 16), lo cual es lógico por el dilatamiento de las venas correspondientes al área pélvica y la mayor probabilidad de pincharlas, a pesar, del uso de la guía con el ultrasonido Doppler a color. Las pacientes con varicocele pelviano tienen 117 veces más de probabilidad de sangrar (sangrado moderado y severo) que una paciente sana. Este sangrado no influye en la calidad ovocitaria, en la calidad embrionaria y en los embarazos, por lo que el varicocele pelviano seguirá siendo el único responsable de las variaciones encontradas. Es importante mencionar, que este sangrado puede originar graves complicaciones, pudiendo aumentar la morbilidad de las pacientes y en

algunos casos se amerita la hospitalización (Shalev y col. 2004; Rísquez y Confino, 2010).

2. Se encontró, que los antecedentes quirúrgicos ginecológicos aumentan en las pacientes con varicocele pelviano (Tabla 16, 17 y 19). Por lo que es lógico comprobar, si estos antecedentes quirúrgicos ginecológicos, logran explicar el bajo índice de ovocitos normales y los pocos embarazos en las pacientes con varicocele pelviano. Al observar en detalle la tabla 17, tenemos que los antecedentes quirúrgicos ginecológicos no se correlacionan con los embarazos (Al igual que en la Tabla 10 y la Figura 12) pero si con los bajos índices de ovocitos normales. Para explicar esta correlación es necesario referirnos a la Figura 9, en la cual gracias al análisis de ruta se observó que el efecto directo de los antecedentes quirúrgicos sobre el índice de ovocitos normales no es significativo, lo que lo hace significativo es la ruta que toma a través del varicocele pelviano y la edad de la paciente (efectos indirectos) para influir sobre el índice de ovocitos normales. Quedando comprobado que la única variable considerada en este estudio que puede explicar las variaciones del índice de ovocitos normales y los embarazos, en las pacientes con varicocele pelviano, es la presencia de las várices pélvicas. Es importante destacar que, la correlación positiva y significativa ($r_{bp}=0,3$; Tabla 17) existente entre los antecedentes quirúrgicos y el varicocele pelviano, se puede deber, a la consideración de la cesáreas en los antecedentes quirúrgicos ginecológicos, ya que estas pacientes que han parido tienen más posibilidades de tener várices, porque durante el embarazo las venas correspondientes al área pélvica aumentan su capacidad vascular hasta 60 veces el valor normal y puede permanecer así durante largos períodos de tiempo (Jin y col. 2004).

3. Las tablas de correlación permitieron conocer que los criterios utilizados tanto para la clasificación de ovocitos y embriones, tienen una baja correlación y no significativa con el éxito de embarazo de las pacientes (Tablas 17, 18 y 19).
4. La transferencia de un mayor número embriones transferidos aumentan los embarazos (Tabla 17 y 18), ya que aumentan las probabilidades de implantación del embrión (Edwards y Rísquez. 2003).

En resumen, esta investigación demostró que el varicocele pelviano ésta asociado a problemas de subfertilidad, los mecanismos por los cuales se produce, no se han aclarado. Es importante mencionar, que en el caso del varicocele testicular a pesar del tiempo que tiene siendo estudiado y de su alta frecuencia, aún no se ha podido determinar con exactitud el mecanismo mediante el cual el varicocele afecta la calidad del semen y, por ende, la fertilidad (Hauser y col. 2001). Por lo que se recomienda estudios más detallados y extensos, que permitan conocer los mecanismos por los cuales el varicocele pelviano causa estas afecciones en la fertilidad de la mujer.

CONCLUSIONES

Los hallazgos de este estudio sugieren:

- En las pacientes que presentan varicocele pelviano la calidad de los ovocitos presentan una disminución estadísticamente significativa.
- Los análisis estadísticos no exhibieron diferencias estadísticamente significativas en la calidad embrionaria en las pacientes controles y con varicocele pelviano.
- Los embarazos presentan una disminución estadísticamente significativa en aquellas pacientes que presentan varicocele pelviano.
- Las pacientes con varicocele pelviano tienen una probabilidad 117 veces mayor de presentar sangrado moderado o severo, que las pacientes control.
- El varicocele pelviano puede ser un elemento importante para tomar en consideración al evaluar el éxito de las técnicas de reproducción humana asistida.

APÉNDICES

Apéndice 1: Pruebas de Normalidad.

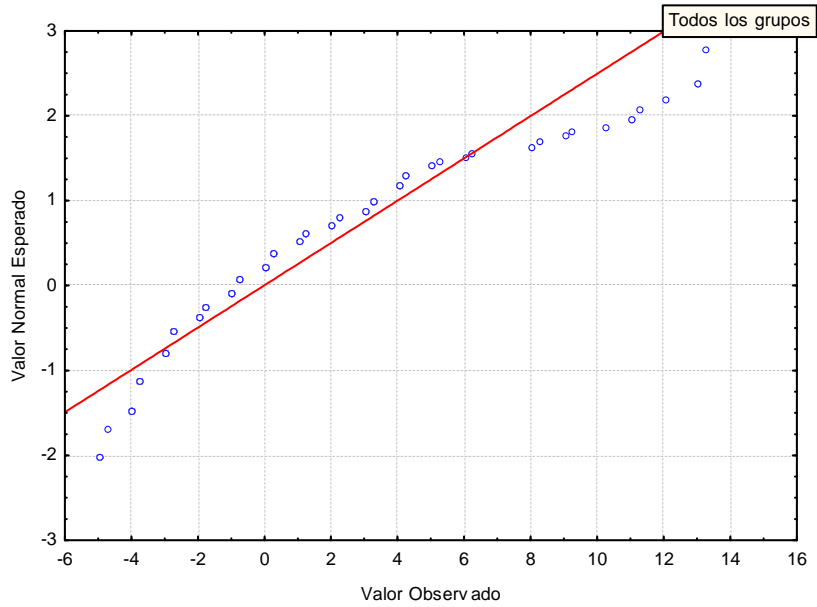


Figura 15: Visualización del alejamiento de la condición de normalidad para el número de ovocitos aspirados en pacientes control y con varicocele pelviano. El gráfico permite asumir que la distribución de los datos es normal.

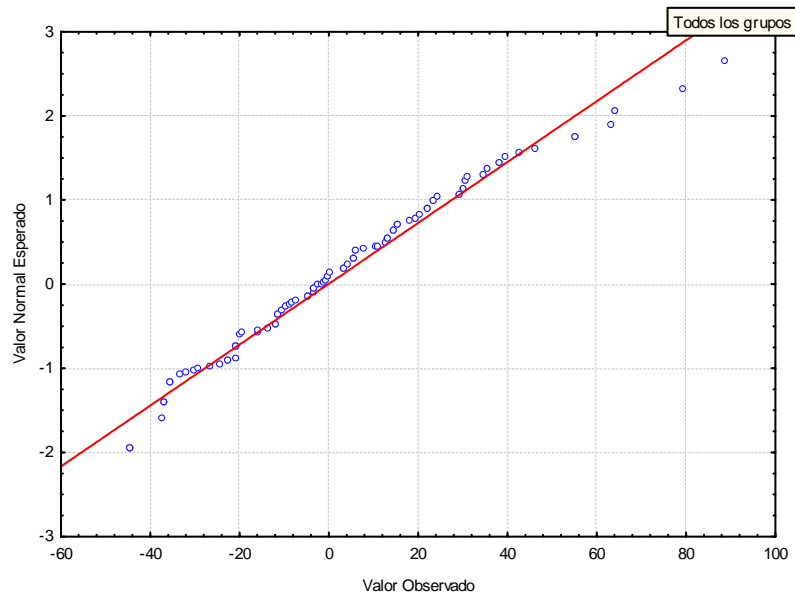


Figura 16: Visualización del alejamiento de la condición de normalidad para el índice de ovocitos normales en pacientes control y con varicocele pelviano. El gráfico permite asumir que la distribución de los datos es normal.

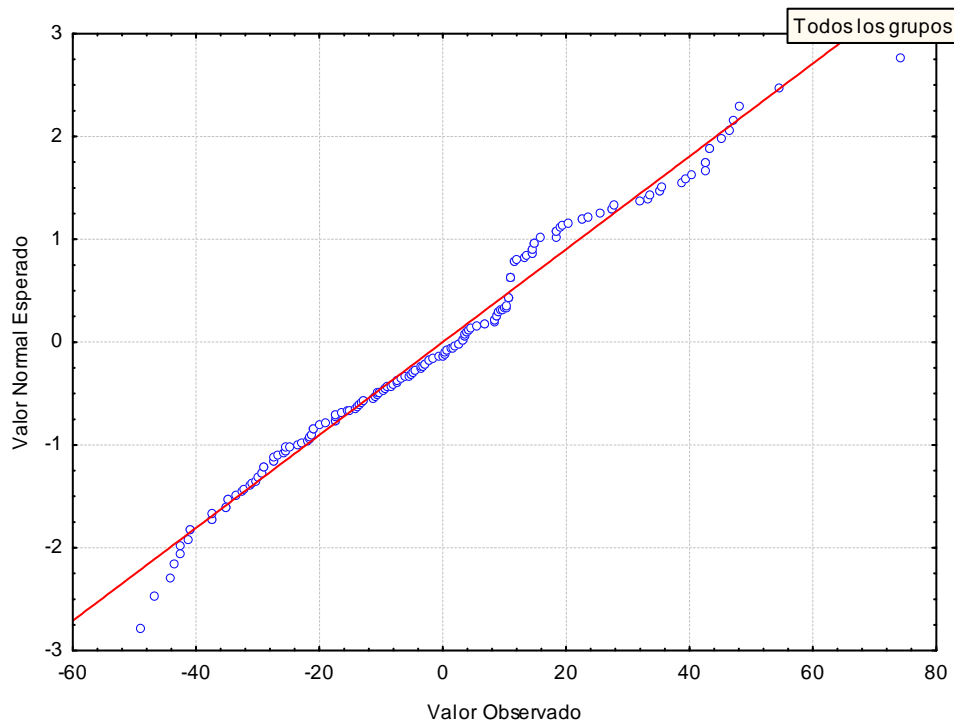


Figura 17: Visualización del alejamiento de la condición de normalidad para la calidad embrionaria en pacientes control y con varicocele pelviano. El gráfico permite asumir que la distribución de los datos es normal.

Apéndice 2: Prueba de homogeneidad de varianza.

Tabla 20: Prueba de homogeneidad de varianza de Levene para el número de ovocitos aspirados en las pacientes control y con varicocele pelviano. El valor p indica que no existe diferencia significativa entre las varianzas de ambos grupos.

	Suma de cuadrados del tratamiento	Suma de cuadrados del Error	F	P
Número de ovocitos aspirados	16,052	5,870	2,735	0,099

Tabla 21: Prueba de homogeneidad de varianza de Levene para el índice de ovocitos normales teniendo en cuenta el efecto de la condición y la edad de las pacientes. El valor p indica que no existe diferencia significativa entre las varianzas de ambos grupos.

	Suma de cuadrados del tratamiento	Suma de cuadrados del Error	F	P
índice de ovocitos normales	533,650	270,314	1,974	0,120

Tabla 22: Prueba de homogeneidad de varianza de Levene para la calidad embrionaria teniendo en cuenta el efecto de la condición y la edad de las pacientes. El valor p indica que no existe diferencia significativa entre las varianzas de ambos grupos.

	Suma de cuadrados del tratamiento	Suma de cuadrados del Error	F	P
Calidad Embrionaria	265,575	173,193	1,533	0,207

Apéndice 3: Comparación de medias aritméticas.

Tabla 23: Cuadro obtenido a partir del cálculo de un Análisis de Varianza (ANOVA) de 1-Factor ($\alpha=0,05$) realizado al número de ovocitos aspirados en las pacientes. El análisis estadístico exhibió que no existen diferencias significativas para el factor condición (presencia o ausencia de varicocele pelviano; $p>0,05$).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado medio	F	P
Tratamiento	3,019	1	3,019	0,215	0,643
Error	3357,578	239	14,048		
Total	3360,597	240			

Tabla 24: Cuadro obtenido a partir del cálculo de un Análisis de Varianza (ANOVA) de 1-Factor ($\alpha=0,05$) realizado al índice de ovocitos normales en las pacientes. El análisis estadístico exhibió diferencias significativas ($p<0,05$) para el factor condición (presencia o ausencia de varicocele pelviano).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado medio	F	P
Tratamiento	4852,652	1	4852,652	6,381	0,013
Error	120912,2	159	760,454		
Total	125764,852	160			

Tabla 25: Cuadro obtenido a partir del cálculo de un Análisis de Varianza (ANOVA) de 2-Factores ($\alpha=0,05$) realizado al índice de ovocitos normales en las pacientes. El factor 1 corresponde a la condición de la paciente (control o con varicocele pelviano) y el factor 2 a la edad (pacientes menores y mayores de 38 años de edad). El análisis estadístico exhibió diferencias significativas ($p < 0,05$) para las variables condición (factor 1) y edad (factor 2). La interacción de la edad y la condición de las pacientes no ejerce efectos significativos ($p > 0,05$) sobre el índice de ovocitos normales.

	Sumatoria de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
Condición	4546,6	1	4546,6	6,215	0,014
Edad	5443,8	1	5443,8	7,441	0,007
Condición*Edad	445,9	1	445,9	0,610	0,436
Error	114851,9	157	731,5		

Tabla 26: Cuadro obtenido al realizar la prueba a posteriori de Duncan del ANOVA anterior (Tabla 25). Se puede notar en rojo las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre las cuatro grupos (grupos de paciente control y con varicocele pelviano, menores y mayores de 38 años de edad). La prueba mostró que existe diferencias significativas en las pacientes con varicocele pelviano, mayores de 38 años de edad con el resto de los grupos ($p < 0,050$).

Condición– Edad	Control > 38 años	Varicocele < 38 años	Varicocele > 38 años
Control < 38 años	0,196	0,226	0,000
Control > 38 años		0,868	0,021
Varicocele < 38 años			0,018

Tabla 27: Cuadro obtenido a partir del cálculo de un Análisis de Varianza (ANOVA) de 1-Factor ($\alpha=0,05$) realizado al score de la calidad embrionaria en pacientes. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas ($p > 0,05$) para el factor condición.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado medio	F	P
Tratamiento	141,538	1	141,538	0,292	0,589
Error	115851	239	484,732		
Total	115992,538	240			

Tabla 28: Cuadro obtenido a partir del cálculo de un Análisis de Varianza (ANOVA) de 2-Factores ($\alpha=0,05$) realizado al score de calidad embrionaria en las pacientes. El factor 1 corresponde a la condición de la paciente (control o con varicocele pelviano) y el factor 2 a la edad (pacientes menores y mayores de 38 años de edad). El análisis estadístico no mostró diferencias significativas ($p > 0,05$) ni para la variable condición (factor 1), ni para la variable edad (factor 2). La interacción de la edad y la condición de las pacientes no ejerce efectos significativos ($p > 0,05$) sobre el score de la calidad embrionaria.

	Sumatoria de cuadrados	Grados dos de libertad	Cuadrado medio	F	P
Condición	187,5	1	187,5	0,390	0,533
Edad	1714,4	1	1714,4	3,571	0,060
Condición*Edad	267,2	1	267,2	0,557	0,456
Error	113792,1	237	480,1		

Tabla 29: Tabla comparativa del porcentaje de embarazos en las pacientes control y con varicocele pelviano, se observa que el porcentaje de pacientes que quedaron embarazadas es menor en el grupo que padece varicocele pelviano. Además, se presenta una prueba de Ji-Cuadrado que sugiere que esta diferencia es estadísticamente significativa ($p < 0,05$).

	Control	Varicocele Pelviano	Prueba estadística (\neq)
Embarazos	47.6%	27%	$X^2=10.92, g_L=1, p=0.001$

Agger, P. 1971. Scrotal and testicular temperature: its relation to sperm count before and after operation for varicocele. *FertilSteril*,**22**; **5**:286-97.

Alikani, M., Cohen, J., Tomkin, G., Garrisi, J., Mack, C., Scott, R. 1999. Human embryo fragmentation and its implications for pregnancy and implantation. *FertilSteril*, **71**: 836-42.

Balmaceda J., Bernardini, L., Ciuffardi, L., Felix, C., Ord, T., Sueldo, C., Asch, R.1994. Implantation: Oocyte donation in humans: a model to study the effect of age on embryo implantation rate. *Hum. Reprod.* **9**; **11**: 2160-63.

Barri P., Tur, R., Coroleu, B., Martínez, F. 2002. Fertilidad después de los 40 años. Revista iberoamericana de fertilidad IV Congreso SEC: 73-77.

Beca J. 2002. El embrión humano. Editorial Mediterráneo, Primera Edición, Santiago, Chile.

Bittles, M., Hoffer, E. 2008. Gonadal vein embolization: Treatment of varicocele and Pelvic congestion syndrome. *Seminars in Interventional Radiology*, **25**; **3**: 261-70.

Braude, P., Bolton, V., Morre, S. 1988. Human gene expression first occurs between the four- and eight-cell stages of preimplantation development. *Nature*. **332**: 459 – 461.

Bulla, L. 1995. Análisis de componentes principales en ecología. Trabajo de ascenso. Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

Científicos alpha en Medicina Reproductiva y ESHERE grupo especial interesado en embriología. 2011. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Human Reprod*, **26; 6**: 1270-83.

Coilam, C., Goodman, C., Rinehart, J. 1999. Colour Doppler indices of follicular blood flow as predictors of pregnancy after *in vitro* fertilization and embryo transfer. *Human Reprod* **14;8**:1973-1982.

Díaz, S., Fernández, P. 2001. Métodos paramétricos para la comparación de dos medias t de Student. *Cad Aten Primaria*. **8**: 37-41.

Edwards, R., Beard, H. 1997. Oocyte polarity and cell determination in early mammalian embryos. *Mol Human Reprod*, **3**: 863-905.

Edwards, R., Beard, H. 1999. Is the success of human IVF more a matter of genetics and evolution than growing blastocysts. *Human Reproduction*, **14**:1-4.

Edwards, R., Rísquez F. 2003. Reproducción asistida moderna. Serono, Primera Edición, Buenos Aires, Argentina.

Fernández, P. 1996a. Elementos básicos en el diseño de un estudio. *Cad Aten Primaria*. **3**:83-85.

Fernández, P. 1996b. Determinación del tamaño muestra. *Cad Aten Primaria*. **3**: 138-14.

Fuse, H., Iwasaki, M., Mizuno, I., Ikehar, Y. 2003. Evaluation of acrosome reactivity using the Acrobeads test in varicocele patients: findings before and after treatment. *Arch Androl*. **49**: 1:1-6.

Dellenbach, P., Nisand, I., Moreau, L., Feger, B., Plumere, C., Gerlinger, P., 1985. Transvaginal sonographically controlled follicle puncture for oocyte retrieval. *Fertil Steril.* **5**: 656–662.

Ganong, W. 1978. Manual de Fisiología Médica. Editorial el Manual Moderno, Sexta Edición, México D.F., México.

Gardner, D. K., Lane M., Stevens J., Schlenker t., Schoolcraft W. B. 2000. Blastocyst score affect implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *FertilSteril.***73**: 1155-8.

Gardner, D. K., Weissman, A., Howes, C., Shoham, Z. 2004. *In vitro* fertilization: A practical approach. Informa Healthcare, New York, U.S.A.

Giacchetto, C., Catizone, F., Cotroneo, G., Cavallaro, V., Cammisuli, F., Minutolo, V., Rodolico, G.1989. Radiologic anatomy of the genital venous system in female patients with varicocele. *SurgGynecolObstet.***169**; **5**:403-7.

Gilbert, S. 2006. La biología del desarrollo. Editorial Médica Panamericana, Séptima Edición, Buenos Aires, Argentina.

Glezerman, M., Rakowszczyk, M., Lunenfeld, B., Been, R., Goldman, B. 1976. Varicocele in oligospermicpatient; pathophysiology an results after ligation and division of internal spermatic vein. *JUro.***115**: 563-565.

Goldstein, M., Eid, J. 1989.Elevation of intratesticular and scrotal skin surface temperature in men with varicocele. *J Urol*, **142**: 743-745.

González, C. 2009. Fare strategies and awareness to drivers through "pico y placa" measure for not using private vehicles in Medellín, Colombia. *RevIngUnivMedellin*. **8**; **14**: 95-110.

Gultaly, Z., Kurt, K., Ýpek, A., Gumu, M., Yazycio, K., Lu, K., Dilmen, G., y colaboradores. 2008. The relation between pelvic varicose veins, bchronic pelvic pain, and lower extremity venous insufficiency in women. *Phlebolympology*. **15**; **2**: 61-6.

Hata, T., Hata, K., Senoh, D., Makiahara, K., Aoki, S., Takamiya, O., Kitao, M., Umaki, K. 1989. Transvaginal Doppler color flow mapping. *Gynecol/Obstet Invest*. **2**; **4**: 217-8.

Hauser, R., Botchan, A., Yogev, L., Yavetz, H. 2001. Varicocele and male infertility: Part II. Varicocele: effect on sperm function. *Human Reprod Update*. **7**; **5**: 482-485.

Jin, S., Won, J., Tae, Y., Ho, D., Yoon, Y., Hyoung, J., Kyung, H., y Yop, H. 2004. Diagnosis of pelvic congestion syndrome using transabdominal and transvaginal sonography. *AJR*, **182**; **3**: 683-88.

Kurjaj, A. 1990. Transvaginal color Doppler imaging. *J Clin Ultrasound*. **18**; **4**: 227-34.

Langman, J. 1969. Embriología Médica. Desarrollo humano normal y anormal. Editorial Interamericana, Segunda Edición, Charlottesville, USA.

Legendre, P., Legendre, L. 1998. Numerical Ecology. ELSEIVER, Segunda Edición, Amsterdam, Holanda.

Leibman, A., Kruse, B., McSweeney, M. 1988. Transvaginal sonography: Comparison with Transabdominal sonography in the Diagnosis of Pelvic Masses. *AJR*. **151**: 89-92.

Lenz, S., Lauritsen, J., Kjellow, M. 1981. Collection of human oocytes for *in vitro* fertilization by ultrasonically guided follicular puncture. *Lancet*. **8230**: 1163-1164.

Loi, K., Prasath, E., Huang Z., Loh S., Loh S. 2008. A cumulative embryo scoring system for the prediction of pregnancy outcome following intracytoplasmic sperm injection. *Singapore Med J*,**49**; **3**: 221.

Ludwig, A., Glawatz, M., Griesinger, G., Diedrich, K., Ludwig, M. 2006. Perioperative and post-operative complications of transvaginal ultrasound-guided oocyte retrieval: prospective study of >1000 oocyte retrievals. *HumReprod.* **12**: 3235–3240.

Mandelbaum, J. 2000. Oocytes, Atlas of Embryology. *Human Reprod.***15**; **4**: 11-18.

Mathias, S., Kuppermann, M., Liberman, R., Lipschutz, C., Steege, J. 1996. Chronic pelvic pain: prevalence, health-related quality of life and economic correlates. *ObstetGynecol.***87**: 321-7.

Merce, L.T., Garces, D., Barco, M.J., de la Fuente, F. 1992. Intraovarian Doppler velocimetry in ovulatory, dysovulatory and anovulatory cycles. *UltrasoundObstet. Gynecol.***2**: 197-202.

Milton, S. 2001. Estadística para biología y ciencias de la salud. Editorial McGraw Hill, Tercera Edición, Madrid, España.

Montgomery, D., Runger, G. 2002. Probabilidad y estadística aplicadas a la ingeniería. Editorial LimusaWiley, Segunda Edición, Arizona, USA.

Nahar, Z., Islam, H., Akter, H., Lovel, A. 2008. Comparison of transabdominal and transvaginal sonography in follicular monitoring. *The Journal of Teachers Association RMC.***21**; **1**: 31-34.

Naughton, C., Nangia, A., Agarwal, A. 2001. Varicocele and male infertility. Part II: Pathophysiology of varicoceles in male infertility. *Hum Repro.*,**7**; **5**: 473-81.

Navarro, H., Escobar, M., Fonseca, J. 2005. Pelvic congestion syndrome: the usefulness of laparoscopic treatment. *Rev Colombiana de Obst y Ginec.***56; 1:** 11-1.

OMS. 2010. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. World Health Organization. Quinta Edición. Geneva, Suiza.

Ortiz, R. 2000. Análisis de rutas en biología: Estadística para sistemas multicausales. *Interciencia.***25; 007:** 329-336.

Palermo, G., Joris, H., Devroey, P., Van Steirteghem, A. 1992. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet.***8810:**17-18.

Parsons, J., Booker, M., Goswamy, R., Akkermans, J. 1985. Oocyte retrieval for *in vitro* fertilization by ultrasonically guided needle aspiration via urethra. *Lancet.***1:** 1076-1077.

Payne, D., Flatherty, S., Barry, M., Matthews, C. 1997. Preliminary observations on polar body extrusion and pronuclear formation in human oocytes using time-lapse video cinematography. *Human Reprod.***12:** 532-4.

Prechapanich, J., Tongtub, E. 2010. Retrospective review of the relationship between parity and pregnancy outcomes at Siriraj Hospital. *SirirajMed J.***62; 1:** 14-17.

Resnick, R., Halliday, D. 1967. Física para estudiantes de ciencias e ingeniería. Editorial Continental, Primera Edición. Barcelona, España.

Rísquez, F., Briceño, J., Rísquez, M. C., Castellano, J., Tnag, M., Confino, E. 2010. Color Doppler ultrasound guided oocyte retrieval in women with adnexal varicities. *IFFS 2010.*

Rísquez, F., Confino, E. 2010. Can Doppler ultrasound-guided oocyte retrieval improve IVF safety?. *Reproductive BioMedicine Online.***21:** 444-445.

Romeo, C., Ientile, R., Impellizzeri, P., Turiaco, N., Teletta, M., Antonuccio. 2003. Preliminary report on nitroxide-mediated oxidative damage in adolescent varicocele. *HumRepro*.**18**; **1**: 26-9.

Rouviere, H. 1926. Anatomía humana descriptiva y topografías. Tomo II: Anatomía del tronco. Editorial Bailly-Bailliere, Segunda Edición. Zaragoza, España.

Sadler, T. 2004. Langman Embriología medica. Con orientación clínica. Editorial Medica Panamericana, Novena Edición, Buenos Aires. Argentina.

Sadowy, S., Tomkin, G., Munne, S. 1998. Impaired development of zygotes with uneven pronuclear size. *Zygote*.**5**: 137-41.

Sánchez, R. 2000. Perimenopausia. El climaterio desde sus inicios. Editorial Schering España, S. A. España.

Scott, L., Alvero, R., Leondires, M., Miller B. 2000. The morphology of human pronuclear embryos is positively related to blastocyst development and implantation. *Human Reprod*.**53**: 2394-2403.

Shalev J., Ovrieto R., Meizner I. 2004. Use of color Doppler sonography during follicular aspiration in patients undergoing *in vitro* fertilization may reduce risk of blood vessel injury. *FertilStril*.**81**: 1408-10.

Spandorfer, S., Avrech, O., Colombero, L., Palermo, G., Rosenwaks, Z. 1988. Effect of parental age on fertilization and pregnancy characteristics in couples treated by intracytoplasmic. *Human Reprod*.**13**; **2**:34–338.

Spiegel, M. 1969. Teoría y problemas Estadística. Editorial Libros McGraw-Hill, Colombia.

Steer, C., Mills, C., Tans, S. 1992. The cumulative embryo score: a predictive embryo scoring technique to select the optimal number of embryos to transfer in an *in vitro* fertilization and embryo transfer programme. *Human Reprod.***7**: 1117-19.

Stephens, P., Edwards, R. 1976. Reimplantation of a human embryo with subsequent tubal pregnancy. *Lancet.***7965**: 880-882.

Stephens, P., Edwards, R. 1978. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet.***8085**:366.

Swerloff, R., Walsh, P. 1975. Pituitary gonadal hormones in patients with varicocele. *FertilSteril.* **26**:1006-1012.

Templeton, A., Morris, J. 1998. Reducing the risk of multiple births by transfer of two embryos after *in vitro* fertilization. *The New England Journal Of Medicine.***9**; **339**: 574-577.

Urbina, M. T., Lerner J. 2008. Fertilidad y reproducción asistida. Editorial Médica Panamericana, Primera Edición, Caracas, Venezuela.

Van Steirteghem, A. 1994. IVF and micromanipulation techniques for male-factor infertility. *CurrOpinObstetGynecol.* **6**; **2**:173-177.

Vanrell, J., Calaf J., Balasch J., Viscasillas P. 2000. Fertilidad y esterilidad humana: Esterilidad e infertilidad. Masson, Segunda Edición, Barcelona, España.

Veeck, L. 1999. An atlas of human gametes and conceptuses: An Illustrated Reference for Assisted Reproductive Technology. Primera Edición. Editorial Informa Healthcare. NY, USA.

Wickland, M., Lennart, M., Hamberger, L. 1985. Transvesical and transvaginal approaches for the aspiration of follicles by the use of ultrasound. *Ann NY Acad Sci*.**442**: 182–194.

Zorgniotti, A., MacLeod, J. 1973. Studies in temperature, human semen quality, and varicocele. *FertilSteril*.**24**: 854-863.